Über den Einfluß von Geno- und Plasmotypus auf die phytochromgesteuerte Samenkeimung und die Chlorophyllsynthese (Untersuchungen an Raimannia-Oenotheren)

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Dorothea Langewellpott, geb. Kunze
aus Burbach

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547609_0084

Über den Einfluß von Geno- und Plasmotypus auf die phytochromgesteuerte Samenkeimung und die Chlorophyllsynthese (Untersuchungen an Raimannia-Oenotheren)

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Naturwissenschaften

der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von
Dorothea Langewellpott, geb. Kunze
aus Burbach

1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Tag der mündlichen Prüfung: 11. Februar 1970

Dekan : Prof. Dr. W. Seyffert

1. Berichterstatter : Prof. Dr. B. Schwemmle

2. Berichterstatter : Prof. Dr. E. Bünning

Herrn Professor Dr. B. SCHWEMMLE danke ich herzlich für die Anregung zu dieser Arbeit, für seine Ratschläge und vielfache Unterstützung. Außerdem gilt mein Dank dem Evangelischen Studienwerk Villigst für die Gewährung eines Stipendiums aus Mitteln der Stiftung Volkswagenwerk. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat die Arbeit durch Sachbeihilfen an Prof. Dr. B. Schwemmle unterstützt.

Inhaltsverzeichnis

Seite

I. EINLEITUNG 1

II. METHODE 6

1. Versuchsobjekte 6
2. Bestrahlungsanlagen 7
3. Bei der Untersuchung der Chlorophyllsynthese verwendete Inhibitoren 8
4. Versuchsdurchführung 8
5. Statistik 11

III. VERSUCHSERGEBNISSE 12

A. Untersuchungen über den Einfluß von Genomen, Cytoplasmon und Plastom auf die Samenkeimung 12

1. Samenkeimung der verschiedenen Oenotheren-Formen bei Bestrahlung mit Weißlicht 12
   a) Keimrate bis zum 10.Tag nach der Aussaat 12
   b) Verlauf der Keimung bis zum 10.Tag nach der Aussaat 14

2. Samenkeimung der verschiedenen Oenotheren-Formen bei Bestrahlung mit Farblicht 16
   a) Aktionsspektren der Keimung 16
      a.1) Elternformen: Oe. berteriana und Oe. odorata 16
      a.2) Bastardformen 18
   b) Reversibilisierung der Keimförderung durch Dunkelrot-Strahlung 23

B. Untersuchungen über den Einfluß von Genomen, Cytoplasmon und Plastom auf die Chlorophyllsynthese 28

1. Kontrollversuche: Chlorophyllgehalt und Hypokotyllänge nach Induktion der Samenkeimung durch Grünlicht 28

2. Die Phytochrom-beeinflußte Chlorophyllsynthese verschiedener Oenotheren-Formen 31
   a) Die Chlorophyllsynthese der Elternformen: Oe. berteriana und Oe. odorata 31
   b) Der Einfluß der außerkaryotischen Konstitution auf die Chlorophyllsynthese 33

3. Die Wirkung von Inhibitoren der RNS - und Proteinsynthese auf die Chlorophyllsynthese verschiedener Oenotheren-Formen 37

a) Die Wirkung von Actinomycin D 37

b) Die Wirkung von Chloramphenicol 41

c) Die Wirkung von Cycloheximid 44

IV. DISKUSSION 47

V. ZUSAMMENFASSUNG 51

VI. LITERATURVERZEICHNIS 53

I. EINLEITUNG

Für eine Untersuchung zur Frage nach dem Einfluß von Genotypus und Plasmotypus auf die Morphogenese höherer Pflanzen haben sich die komplexheterozygoten einjährigen Oenotheren Oe. berteriana und Oe. odorata (Untergattung Raimannia, Familie Onagraceae) und die daraus gewonnenen Bastarde als geeignete Versuchsobjekte erwiesen.

Die aus reziproken Kreuzungen erhaltene Nachkommenschaft der Oe. berteriana und Oe. odorata ist mehrförmig und läßt sich, wie auch die beiden Elternformen, durch Selbstbestäubung in erbkonstanten reinen Linien bekannter genetischer Konstitution weiterziehen (CLELAND, 1962). Unter den mit Hilfe von Kreuzungsanalysen bestimmten Bastardformen sind besonders diejenigen interessant, die sich bei gleicher chromosomaler Konstitution ausschließlich in Cytoplasma und Plastiden unterscheiden. Auf Grund eines Vergleichs morphologischer und physiologischer Eigenschaften dieser Formen ergibt sich nämlich die Möglichkeit, spezifische Aussagen über den Einfluß von Cytoplasmon (MICHAELIS, 1954) und Plastom (RENNER, 1934; MICHAELIS, 1958) zu erhalten.

Die durch Kern, Plasma und Plastiden bedingten morphologischen Unterschiede der Oenotheren-Formen sind von J.SCHWEMMLE (1938 a und b; Zusammenfassung bei HAGEMANN, 1964) ausführlich beschrieben worden. Außerdem wurde mehrfach die Abhängigkeit physiologischer Reaktionen von der genetischen Konstitution bei Oenotheren untersucht: B.SCHWEMMLE (1962) hat z.B. bei der Untersuchung der photoperiodischen Blühreaktion sowohl einen karyotischen als auch einen außerkaryotischen Einfluß nachgewiesen. Über die Hitzeresistenz und den Ablauf der circadianen Rhythmik liegen weitere Ergebnisse vor (FREY, 1964, 1966; FREY und B.SCHWEMMLE, 1967). Vor allem die Versuche über die Hitzeresistenz, einem primären, plasmatischen Merkmal (LANGE, 1959)

erbrachten weitere Hinweise dafür, daß die aus den Kreuzungsanalysen gefolgerte genetische, insbesondere die außerkaryotische Konstitution zutrifft.

Bei orientierenden Versuchen zur Phytochromwirksamkeit bei Samenkeimung und Hypokotyllängenwachstum verschiedener Oenotheren-Formen hatten HAURY (1962), STEIN (1962) und KOTTEK (1966) festgestellt, daß diese Reaktionen sowohl von den Genomen als auch von Cytoplasmon und Plastom beeinflußt werden. Da andererseits angenommen wird (z.B. MOHR, 1966), daß das Phytochrom bei der Morphogenese höherer Pflanzen eine "differentielle Genaktivierung" bewirke und außerdem das Phytochrom nach bisheriger Kenntnis im Cytoplasma lokalisiert ist (vgl. BOCK und HAUPT, 1961; HAUPT und BOCK, 1962; HAUPT, 1968), war es notwendig, durch weitere Untersuchungen morphogenetischer Reaktionen von Oenotheren der Frage nachzugehen, ob eine funktionelle Beziehung der Phytochromwirksamkeit nicht nur zu karyotischen, sondern auch zu außerkaryotischen Erbfaktoren besteht.

In der vorliegenden Arbeit wurde zunächst die Samenkeimung verschiedener Oenotheren-Formen untersucht, weil bei der Keimreaktion eine Störung durch photosynthetische Prozesse weitgehend ausgeschlossen werden kann und auf Grund der einfachen Auswertung (Auszählen von gekeimten Samen) die Möglichkeit großer Versuchsvariation bestand.

In zahlreichen Arbeiten über Samenkeimung (vgl. z.B. Zusammenfassung von E.H.TOOLE et al., 1956) ist die für das Phytochrom charakteristische reversible Reaktion auf hell- und dunkelrote Strahlung nachgewiesen worden. Da einerseits das Phytochrom auch die Strahlung anderer Spektralbereiche

als Hell- und Dunkelrot absorbiert (vgl. BUTLER et al., 1964) und andererseits für die Keiminduktion ein zusätzlicher Einfluß anderer absorbierender Pigmente als Phytochrom nicht ausgeschlossen werden kann, lag es nahe, für eine möglichst genaue Abgrenzung der Phytochromwirksamkeit vorerst die Reaktion der Oenotheren-Samen auf die Strahlung der verschiedenen Lichtqualitäten des gesamten sichtbaren Spektrums zu prüfen. Mit den so erhaltenen Aktionsspektren konnte zugleich die Frage beantwortet werden, ob die Samen der Oenotheren-Formen in Abhängigkeit von ihrer karyotischen und außerkaryotischen Konstitution auf die Strahlung quantitativ oder qualitativ unterschiedlich reagieren. Ausgehend von den Aktionsspektren wurde speziell der genetische Einfluß auf die reversible Hellrot-Dunkelrot-Reaktion untersucht.

Die Ergebnisse über die Samenkeimung berechtigten dann zu weiteren Versuchen über die von Kern, Plasma und Plastiden bewirkte genetische Steuerung anderer phytochromabhängiger, genauer zu bestimmender Reaktionen. Besonders geeignet dafür war eine Untersuchung der ebenfalls vom Phytochrom beeinflußten Chlorophyllsynthese, denn wegen der engen Beziehung zwischen Chlorophyllbildung und Ausdifferenzierung plastidärer Thylakoidmembranen (vgl. z.B. VELEMÍNSKÝ und RÖBBELEN, 1966) kann ein funktioneller Zusammenhang zwischen Phytochrom und plastideneigenen Erbfaktoren angenommen werden. Diese Annahme wird einerseits gestützt durch Hinweise darauf, daß das Phytochrom nicht nur die Protochlorophyllsynthese beeinflußt (RUDOLPH, 1965), sondern auch die Bildung von Strukturproteinen in den Chloroplasten (KLEIN et al.,1964);

andererseits ist bereits mehrfach belegt, daß in den Chloroplasten ein eigenes proteinsynthetisierendes System vorliegt, nämlich daß die ribosomale RNS der Chloroplasten von der plastideneigenen DNS (Isolierung z.B. von CHUN et al., 1963) codiert wird (SCOTT und SMILLIE, 1967) und an den plastidären Ribosomen sowohl lösliche als auch lamelläre Proteine synthetisiert werden (SPENCER, 1965; MARGULIES und PARENTI, 1968).

Zur Analyse des Einflusses der karyotischen und außerkaryotischen Konstitution auf die Chlorophyllsynthese wurden spezifisch wirkende Inhibitoren des Nucleinsäure- und Proteinstoffwechsels verwendet. Mit Actinomycin D (vgl. z.B. BOGORAD und JACOBSON, 1964), einem spezifischen Hemmstoff der Transkription (vgl. Zusammenfassung von REICH et al., 1967), ließ sich zunächst die Frage prüfen, ob der genetische, insbesondere der extrachromosomale Einfluß auf eine entsprechende, durch das Phytochrom bewirkte Aktivierung von DNS- abhängiger RNS-Synthese zurückgeführt werden kann (vgl. KASEMIR und MOHR, 1967). Zur Untersuchung möglicher unterschiedlich regulierter Proteinsynthesen wurde außerdem die Chlorophyllsynthese mit zwei Inhibitoren der Proteinsynthese, Chloramphenicol und Cycloheximid, blockiert (vgl. z.B. LINNANE und STEWART, 1967; KIRK und ALLEN, 1965). Chloramphenicol hemmt in geringer Konzentration die Proteinsynthese von Bakterien (WOLFE und HAHN, 1965) und Zellorganellen wie Mitochondrien (CLARK-WALTER und LINNANE, 1966) und Chloroplasten (GOFFEAU und BRACHET, 1965; SPENCER, 1965; vgl. ANDERSON und SMILLIE, 1966), dagegen kaum die des Cytoplasmas (EISENSTADT und

BRAWERMANN, 1964). Auf Grund dieser sehr spezifischen Wirkung von Chloramphenicol sollte insbesondere die Frage nach einem Zusammenhang der Chlorophyllsynthese mit der Bildung plastidärer Strukturproteine aufgegriffen werden. Um zusätzlich die Proteinsynthese der Chloroplasten von der Gesamtsynthese der Zelle abzugrenzen, wurde die hemmende Wirkung von Chloramphenicol auf die Chlorophyllsynthese verglichen mit der von Cycloheximid, das im Gegensatz zu Chloramphenicol nicht die Proteinsynthese von Bakterien hemmt (WHIFFEN, 1948; ENNIS und LUBIN, 1964), sondern ausschließlich die von autotrophen wie heterotrophen eukaryotischen Organismen (vgl. Zusammenfassung von SISLER und SIEGEL, 1967).

II. METHODE

1. Versuchsobjekte

Die genetische Konstitution und die Selbstungsgeneration der untersuchten Oenotheren-Formen sind in Tabelle 1 aufgeführt. Das Samenmaterial stammte aus den Nachzuchten von 1962, 1963 und 1965 (Tübingen)[1]. Es lag bis zur Verwendung trocken bei 8 ± 2° C im Kühlschrank; in jedem Falle waren mehr als 85% der Samen keimfähig.

Tabelle 1. Genetische Konstitution und Selbstungsgeneration der Versuchsobjekte.

Nr.	Konstitution[2]	Selbstungs-generation
	Oe. berteriana:	
1	B.1 bert.Cyt.,bert.Plast.	F_x
2	B.1 od.Cyt.,bert.Plast.	F_8
	Oe. odorata:	
3	v.I od.Cyt., od.Plast.	F_x
6	v.I bert.Cyt.,bert.Plast.	F_7
8	B.I bert.Cyt.,bert.Plast.	F_{26}
9	B.I od.Cyt., od.Plast.	F_{26}
11	l.v bert.Cyt.,bert.Plast.	$F_{22,23}$
12	l.v od.Cyt., od.Plast.	$F_{23,24}$
13	B.v bert.Cyt.,bert.Plast.	$F_{22,23}$
14	B.v od.Cyt., od.Plast.	$F_{2,x}$

[1] Das Saatgut stellte Prof.Dr.B.SCHWEMMLE zur Verfügung.

[2] Folgende Abkürzungen werden hier und weiterhin benutzt: Oe.= Oenothera; B, l, v und I = je 7 Chromosomen umfassende Genomkomplexe; bert.Cyt.,bert.Plast.= berteriana-Cytoplasma, berteriana-Plastiden; od.Cyt.,od.Plast.= odorata-Cytoplasma, odorata-Plastiden.

Die cytologischen Grundlagen und die Kreuzungsfolgen, die zu den verschiedenen genetischen Konstitutionen führten, sind den Arbeiten von J.SCHWEMMLE (1938 a und b), HAUSTEIN (1938) und HAGEMANN (1964) zu entnehmen.

Bei den Keimversuchen wurden alle angeführten Oenotheren-Formen außer B.l od.Cyt.,bert.Plast. verwendet, bei den Untersuchungen zur Chlorophyllsynthese die verschiedenen B.l-, v.I- und l.v-Formen, weil ihre genetische Konstitution besonders dadurch gewährleistet ist, daß bei ihnen in der Diakinese und frühen Metaphase der Meiose die 14 Chromosomen (je 7 von einem Elter) in einem Ring angeordnet sind (bei den übrigen Formen in mehreren Ringen; vgl. J.SCHWEMMLE, 1938 b und CLELAND, 1962) und daher crossing over weitgehend ausgeschlossen werden kann.

2. Bestrahlungsanlagen

Die Weißlichtbestrahlung erfolgte in einer Klimakammer mit Osram-Fluora-Leuchtstoffröhren (Typ L 40 W), die Farblichtbestrahlung in der klimatisierten Interferenzfilter-Bestrahlungsanlage des Instituts[1] (SCHOSER, 1966). - Die von SCHOTT & Gen., Mainz angegebenen Daten der Interferenzfilter (Band- und Linienfilter) waren mit einem Spektralphotometer PMQ II, ZEISS nachgemessen und teilweise korrigiert worden. - Außerdem wurde das von MOHR und SCHOSER (1959) beschriebene Hellrot-Feld, das Dunkelrot-Feld (mit SCHOTT-Filter RG 9) und die "safe-light" - Lampe (mit den SCHOTT-Farbgläsern BG 18 und GG 14) verwendet. Für Bestrahlungen mit Grünlicht war zusätzlich ein Feld mit grünen Leuchtstoffröhren (Typ L 40 W/ 63) und einer CINEMOID-Folie (Nr.39, Transmissionsmaximum bei 530 nm) konstruiert worden.

Die Strahlungsenergie wurde mit einem Thermosäulen-Galvanometersystem gemessen (Thermosäule E_1 von KIPP und ZONEN, Delft, Holland und Multiflex-Galvanometer Typ MGO von LANGE, Berlin).

---

[1] Botanisches Institut der Universität Tübingen

3. Bei der Untersuchung der Chlorophyllsynthese verwendete Inhibitoren

Actinomycin D : MERCK, SHARP & DOHME, Rahway, N.J., USA[1)]
Chloramphenicol : BAYER, Leverkusen (als Leukomycin; Kontrollversuche zeigten, daß der Zusatz von Succinat die Versuchsergebnisse nicht beeinflußte)
Cycloheximid (Actidion) : SERVA-Entwicklungslabor, Heidelberg

Die Inhibitoren wurden in aqua dest. gelöst.

4. Versuchsdurchführung

Sowohl die Untersuchung der Samenkeimung als auch die der Chlorophyllsynthese erfolgte bei konstanter Temperatur von 23 ± 1° C.

Die Keimversuche wurden nach folgendem Grundprogramm durchgeführt: Nach Induktion einer etwa 50%igen Keimung durch Weißlichtbestrahlung wurde geprüft, ob eine zusätzliche Bestrahlung mit Farblicht fördernd oder hemmend auf die Keimung wirkt. Da die Samen der verschiedenen Oenotheren-Formen in ihrer Lichtbedürftigkeit für eine Keimung von etwa 50% sehr stark differierten, mußte die Dauer der Weißlichtbestrahlung (Beleuchtungsstärke: 4 000 Lux) bei den einzelnen Formen variiert, dagegen konnte zum Vergleich der jeweiligen Empfindlichkeit der Samen gegenüber den Lichtqualitäten des sichtbaren Spektrums die monochromatische Bestrahlung unter konstanten Bedingungen durchgeführt werden: Nach 24-stündiger Dunkelheit (im Anschluß an die Weißlichtbestrahlung) wurden die Samen an 3 aufeinanderfolgenden Tagen zum jeweils gleichen Zeitpunkt 20 Min. mit gleicher Zahl von Quanten/cm^2 bestrahlt. - Als Bezugswert zur quantengleichen Einstellung diente die Intensität, die bei der

---

1) Für die Überlassung des Präparates sei auch an dieser Stelle gedankt.

kürzesten verwendeten Wellenlänge erzielt werden konnte: 4 800 erg/cm^2.sec bei 402 nm. - Mit der dreimaligen Bestrahlung wurden zugleich mögliche tagesperiodische Schwankungen in der Lichtempfindlichkeit der Samen (endogene Tagesrhythmik) berücksichtigt.

Die Samen wurden in Petrischalen auf feuchtem Filtrierpapier (SCHLEICHER & SCHÜLL Nr. 589^4 - Gelbband)[1], das mindestens 12 Stunden mit aqua dest. vorgequollen war, zur Keimung gebracht. Auf jeden Sektor des in 3 Sektoren eingeteilten Filtrierpapiers wurden 50 - 70 Samen ausgesät. Um die Feuchtigkeit in den Petrischalen möglichst konstant zu halten, standen sie während der Dunkelzeiten in einer feuchten Kammer (Aquarium). Während der Bestrahlungszeiten wurden die Deckel durch 2,5 mm dicke planparallel geschliffene Glasplatten ersetzt. - Die Auszählung der gekeimten Samen erfolgte in schwachem Grünlicht (etwa 400 erg/cm^2.sec) vom 3. bis 6.Tag nach der Aussaat täglich zur selben Zeit, die Endzählung am 10.Tag. Als gekeimt galten die Samen, bei denen die Radikulaspitze gut sichtbar war. Sie wurden jeweils entfernt, um einen Einfluß durch ausgeschiedene Keimhemmstoffe weitgehend zu vermeiden. Am 10.Tag wurden außerdem die nicht gekeimten Samen auf ihre Keimfähigkeit geprüft: als keimfähig galten diejenigen, bei denen durch Quetschen mit einer Pinzette weißes Endosperm nachgewiesen werden konnte.

Auch bei der Untersuchung der Chlorophyllsynthese mußte zunächst die Samenkeimung durch Strahlung induziert werden, da sämtliche verwendeten Oenotheren-Formen entweder obligatorische oder fakultative Lichtkeimer sind. Um die für die Keimung notwendige Strahlung von der die Chlorophyllsynthese bewirkenden möglichst weitgehend zu trennen, wurden zur Induktion beider Reaktionen verschiedene Lichtqualitäten verwendet: Die Induktion der Keimung erfolgte durch Bestrah-

---

[1] Bei früheren Kontrollversuchen mit verschiedenen Filtrierpapiersorten hat sich das Gelbband-Filtrierpapier als das geeignetste für die Keimung der Oenotheren-Samen erwiesen.

lung mit dreitägigem Dauer-Grünlicht (etwa 850 erg/cm^2.sec), nach anschließender zweitägiger Dunkelzeit die der Chlorophyllsynthese durch Bestrahlung mit Hellrot (etwa 1 300 erg/cm^2.sec). Bei einigen Versuchen wurde zusätzlich mit Dunkelrot (etwa 1 300 erg/cm^2.sec) vorbestrahlt, da im Dunkelroten vermutlich die Protochlorophyllsynthese ansteigt (vgl. z.B. KASEMIR und MOHR, 1967). Dabei wurden die Keimlinge nach einer Dunkelzeit von 28 Stunden (im Anschluß an die Grünbestrahlung) 4 Stunden mit Dunkelrot bestrahlt, 16 Stunden im Dunkeln gehalten und dann wiederum am 5.Tag nach der Aussaat mit Hellrot bestrahlt. - Am 4.Tag nach der Aussaat waren ebenfalls im Grünlicht (15 Min.) die Samenschalen von den Keimlingen mittlerer Hypokotyllänge (in jeder Petrischale etwa 120) abgestreift und die übrigen Keimlinge sowie ungekeimte Samen entfernt worden.

Zur Inkubation mit den Inhibitoren wurden die Keimlinge 3 Stunden vor Beginn der Bestrahlung mit Hellrot in kleine Petrischalen (Durchmesser 3 cm) mit 7 ml wäßriger Inhibitor-Lösung überführt und diese im Vakuum infiltriert (zweimal 5 Min.). - Zur Kontrolle wurden Versuche mit Wasserinfiltration durchgeführt. - Nach dreistündiger Inkubation im Dunkeln kamen die Keimlinge für die anschließende Bestrahlung wieder auf das Keimpapier, das zuvor getrocknet und mit den 7 ml Inkubationslösung getränkt worden war. Unmittelbar nach der Bestrahlung wurden die Keimlinge in Trockeneis (bei -78,5° C) eingefroren und bis zur Analyse bei -20° C aufbewahrt.

Die Bestimmung des Chlorophyllgehaltes erfolgte spektralphotometrisch. Hierzu wurden die Keimlinge in Trockeneis bei Zusatz einer Spatelspitze $CaCO_3$ mit Seesand zermörsert, die Pigmente mit 85%igem wäßrigem Aceton (p.a., MERCK) extrahiert und nach Absaugen des Homogenats durch eine 3 G4-Fritte von 10 ml Extraktionslösung die Extinktionen bei 663 nm und 644 n (Schichtdicke 1 cm oder 5 cm, Spektralphotometer PMQ II, ZEIS mit Küvetten- und Spaltbreitenautomatik) gemessen. Nach einer Korrektur der Lichtstreuung mit Hilfe der Extinktion bei 750 nm (vgl. ZIEGLER und EGLE, 1965) ließ sich der Pigmentgehalt an Hand folgender Gleichungen (vgl. RÖBBELEN, 1955)

ermitteln, wobei c_a und c_b jeweils den Gehalt an Chlorophyll a und b in µg/ml angeben:

$c_a = 10{,}34 \times E(663) - 0{,}92 \times E(644)$

$c_b = 19{,}69 \times E(644) - 3{,}86 \times E(663)$

Als Bezugsgröße diente die Zahl der Keimlinge (40 oder 50 für eine Messung), da Trockengewicht, Eiweißgehalt und andere Größen selbst in charakteristischer Weise sowohl von der genetischen Konstitution als auch von den Versuchsbedingungen abhängen.

5. Statistik

Der Standardfehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) wurde wie üblich nach folgender Formel errechnet:

$$s_{\bar{x}} = \pm \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n_i} (x_i - \bar{x})^2}{n (n - 1)}}$$

(x_i = Einzelwert, $\bar{x}$ = arithmetisches Mittel, n = Anzahl der Einzelwerte) und die statistische Prüfung entweder nach dem t-Test (vgl. z.B. WEBER, 1961) oder dem sequentiellen t-Test (NATIONAL BUREAU OF STANDARDS, 1951) durchgeführt. Die Sequenzanalyse war sehr geeignet für die Planung der Versuche zur Chlorophyllsynthese, vor allem hinsichtlich einer Entscheidung darüber, wieviele Einzelwerte bei der Reproduktion von Versuchen voraussichtlich benötigt werden, um eine bisher noch nicht erwiesene Signifikanz zu erreichen.

Als Resultat des t-Tests wird die Irrtumswahrscheinlichkeit für zweiseitige Fragestellung (α), als Resultat des sequentiellen t-Tests der Fehler erster (α) und zweiter Art (β) angegeben.

Die Daten wurden mit Hilfe eines elektronischen Tischcomputers (olivetti programma 101) errechnet.[1)]

[1)] In diesem Zusammenhang möchte ich Herrn Prof.Dr.W.SEYFFERT (Lehrstuhl für Genetik) für die Erlaubnis, den Computer zu benutzen, sowie für wertvolle Ratschläge zur statistischen Auswertung der Versuchsergebnisse herzlich danken.

III. VERSUCHSERGEBNISSE

A. Untersuchungen über den Einfluß von Genomen, Cytoplasmon und Plastom auf die Samenkeimung

1. Samenkeimung der verschiedenen Oenotheren-Formen bei Bestrahlung mit Weißlicht

a) Keimrate bis zum 10.Tag nach der Aussaat

Um bei den verschiedenen Oenotheren-Formen die angestrebte 50%ige Keimung, die, wie oben dargelegt, als Bezugswert für die Farblichtversuche gelten sollte, durch Weißlichtbestrahlung zu erreichen, war es notwendig, die Bestrahlungszeit zu variieren (vgl. Tab.2). Da die Versuche zu verschiedenen Zeiten durchgeführt wurden, mußte dieser Bezugswert jeweils neu bestimmt werden. Dabei war es vor allem wegen starker Lichtempfindlichkeitsschwankungen der Samen innerhalb eines Jahres[1)] schwierig, genau den Wert von 50% zu erhalten. Den Bastardpaaren, die sich lediglich in ihrer außerkaryotischen Konstitution unterscheiden, wurde außerdem jeweils die gleiche Dauer Weißlicht gegeben, damit sie in ihrer Reaktion auf die Strahlung besser verglichen werden konnten, auch wenn gerade deshalb die Keimprozente teilweise stark vom 50%-Wert abwichen. Zudem wurde bei einigen Formen, wie z.B. den B.I-Bastarden, die Keimrate bewußt unter dem 50%-Wert gehalten, um bei zusätzlicher monochromatischer Bestrahlung den fördernden Einfluß bestimmter Lichtqualitäten vollständig zu erfassen.

In Tabelle 2 sind die Keimprozentwerte derjenigen Weißlichtkontrollen angegeben, die bei den im folgenden dargestellten Farblichtversuchen mit den verschiedenen Oenotheren-Formen erhalten wurden.

---

1) Die auffallend starken Schwankungen in der Lichtempfindlichkeit von Oenotheren-Samen im Laufe eines Jahres, deren Ursachen bisher nicht erklärt werden konnten, sind schon aus früheren Arbeiten (z.B. J.SCHWEMMLE, 1960, 1969, F.KOTTEK, 1966; vgl. BÜNNING, 1949) bekannt.

Tabelle 2. Keimung bis zum 10.Tag nach der Aussaat bei Weißlichtbestrahlung.
Angegeben sind jeweils die Mittelwerte ($\bar{x}$) aus 6 Einzelwerten mit Standardfehler ($s_{\bar{x}}$).

Genetische Konstitution	Dauer der Weißlicht-bestrahlung (Stunden)	Keimung (%) $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$
Oe. berteriana:		
B.1 bert.Cyt.,bert.Plast.	24,0	35,2 ± 1,3
Oe. odorata:		
v.I od.Cyt., od.Plast.	0,5	47,0 ± 2,8
v.I od.Cyt., od.Plast.	0,5	49,2 ± 1,9 [1)]
v.I bert.Cyt.,bert.Plast.	0,5	58,6 ± 2,0
B.I bert.Cyt.,bert.Plast.	5,0	15,8 ± 1,7
B.I od.Cyt., od.Plast.	5,0	17,9 ± 2,0
l.v bert.Cyt.,bert.Plast.	40,0	44,8 ± 1,7
l.v od.Cyt., od.Plast.	40,0	30,3 ± 1,5
B.v bert.Cyt.,bert.Plast.	24,0	43,0 ± 3,6
B.v od.Cyt., od.Plast.	24,0	60,9 ± 1,6

Die Unterschiede in der Lichtbedürftigkeit der Samen sind bereits bei den Elternformen stark ausgeprägt: im Vergleich zu Oe. berteriana benötigt Oe. odorata fast gar kein Licht für eine etwa 50%ige Keimung.

In einem zusätzlichen Versuch wurde festgestellt, daß die Samen der Oe. odorata im Dauerdunkel nur um einige Prozent weniger keimen als nach einer halbstündigen Bestrahlung mit Weißlicht. Diese schwache Reaktion auf die Strahlung kann darauf zurückgeführt werden, daß die Samen noch während der Quellungszeit (nach volumetrischen Bestimmungen 40 Min., stärkste Wasseraufnahme innerhalb der ersten 20 Min.) bestrahlt werden.

Die unterschiedliche Lichtbedürftigkeit der übrigen Oenotheren-Formen ist weniger durch einen Einfluß der außerkaryotischen als vielmehr der karyotischen Konstitution bedingt, da die bei gleicher Bestrahlungszeit erhaltenen Unterschiede

[1)] Dieser Wert von v.I od.Cyt.,od.Plast. wurde bei dem Farblichtversuch erhalten, bei dem zum Vergleich zusätzlich v.I bert.Cyt.,bert.Plast. untersucht wurde (vgl. Abb.7).

in den Keimprozentwerten jedes Bastardpaares (sie sind signifikant bei den v.I-, B.v- und 1.v-Formen) wesentlich schwächer ausgeprägt sind als die Unterschiede in den Bestrahlungszeiten die für eine etwa 50%ige Keimung der genotypisch verschiedenen Bastarde notwendig sind. Läßt man den Einfluß der außerkaryotischen Konstitution unberücksichtigt und vergleicht nach Tabelle 2 den Einfluß der verschiedenen Komplexkombinationen, so erhält man die nachstehende Reihenfolge zunehmender Lichtbedürftigkeit: v.I - B.I - B.v - B.1 - 1.v; dabei benötigt v.I am wenigsten und 1.v am meisten Weißlicht zur Keimung. Die einzelnen Genkomplexe können in einer entsprechenden Reihe zunehmender Lichtbedürftigkeit angeordnet werden: I - v - B - dabei bewirkt I die geringste und 1 die stärkste Lichtabhängigkeit. Diese Reihenfolge der Genkomplexe stimmt überein mit der von J.SCHWEMMLE (1960, 1961 und 1969) in anderen Versuchen gefundenen Komplexreihe zunehmender Lichtbedürftigkeit der Samen bei der Keimung.

b) Verlauf der Keimung bis zum 10.Tag nach der Aussaat

b.1) Elternformen: Oe. berteriana und Oe. odorata

Da die Elternformen in ihrer Lichtbedürftigkeit für die Keimung sehr stark differieren (vgl. Tab.2), konnte zum Vergleich des Keimverlaufs nicht die gleiche Weißlicht-Bestrahlungszeit gegeben werden. Hinsichtlich des Keimverlaufs wurden deshalb nur die Ergebnisse der Versuche ausgewertet, bei denen durch die verschiedenen Bestrahlungszeiten eine etwa 50%ige Keimung erreicht worden war. Die Keimraten der Elternformen vom 3. bis 6. und vom 10.Tag nach der Aussaat der Samen sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Vor allem in den ersten Tagen nach der Aussaat treten bei der Keimung der Elternformen deutliche Unterschiede auf: Bis zum 5.Tag keimen die Samen der Oe. odorata langsamer als die der Oe. berteriana. Vom 5. bis zum 6.Tag nach der Aussaat erreichen sie dann aber durch Beschleunigung der Keimung den relativen Keimprozentwert der anderen Elternform. Am 6.Tag

bereits ist die Keimung beider Oenotheren weitgehend beendet: Bis zum 10.Tag keimen zusätzlich nur noch 2-3% der Samen.

Tabelle 3. Verlauf der Keimung von Oenothera berteriana und Oenothera odorata.

Angegeben sind die nach Weißlichtbestrahlung erhaltenen Keimprozentwerte derjenigen Versuche, deren Daten vom 10.Tag nach der Aussaat bereits in Tab.2 angeführt sind. In der oberen Reihe sind jeweils die absoluten Keimprozentwerte eingetragen, in der unteren Reihe ist zum besseren Vergleich des Keimverlaufs beider Arten die Keimrate vom 10.Tag gleich 100 gesetzt und die übrigen Werte darauf bezogen.

		Tage nach Aussaat				
		3	4	5	6	10
Oe. berteriana	Keimung in %	8,3	21,1	32,7	34,8	35,2
(24 Stunden Weißlicht)	relative Keim-%	23,6	60,0	93,0	98,7	100,0
Oe. odorata	Keimung in %	7,5	14,4	34,8	45,7	47,0
(1/2 Stunde Weißlicht)	relative Keim-%	16,0	30,7	74,0	97,2	100,0

b.2) Reziproke Bastardformen

Wie bei den Elternformen wurde auch der Keimverlauf der Bastardformen jeweils untersucht, nachdem durch Weißlichtbestrahlung eine etwa 50%ige Keimung induziert worden war.

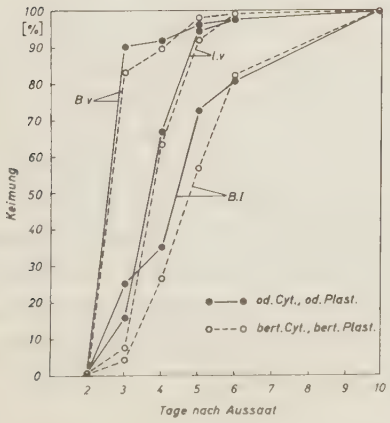

Abb.1. Keimverlauf der reziproken Bastardformen nach Weißlichtbestrahlung.

Ordinate: relative Keimprozente. Da die absoluten Keimprozentwerte vom 10.Tag nach der Aussaat unterschiedlich ausfielen (vgl. Tab.2), wurden sie zum besseren Vergleich des Keimverlaufs der verschiedenen Formen jeweils gleich 100 gesetzt und die übrigen Werte entsprechend umgerechnet. - Am 2.Tag nach der Aussaat waren noch keine Samen gekeimt.

Bei einem Vergleich des in Abb.1 dargestellten Keimverlauf der reziproken Bastardformen ergeben sich ähnlich wie bei der Gesamtkeimung vom 10.Tag nach der Aussaat (vgl. Tab.2) wieder vor allem genotypisch bedingte Unterschiede: Die Bastarde mit gleichen Komplexkombinationen liegen im Keimverlauf jeweils eng beieinander. Allerdings eilen die Formen mit odorata Cytoplasma und odorata-Plastiden in den ersten Tagen nach der Aussaat etwas voraus. Diese offenbar durch die außerkaryotische Konstitution bedingten Unterschiede lassen sich aber nicht statistisch sichern. Dagegen sind z.B. am 4.Tag die Unterschi in den Keimprozentwerten der drei Komplexkombinationen signifikant. Die kombinierten Genkomplexe können demnach in einer Reihe zunehmender Keimverzögerung angeordnet werden: B.v - 1. B.I; B.v keimt am schnellsten, B.I am langsamsten.

Auch bei zusätzlicher Farblichtbestrahlung innerhalb des sichtbaren Spektrums wurde stets eine entsprechende genotypische Abhängigkeit der Keimgeschwindigkeit festgestellt. Auf weitere - in einer Staatsexamensarbeit (KUNZE,1966) wiedergegebene - Belege zum Keimverlauf wird daher verzichtet.

2. Samenkeimung der verschiedenen Oenotheren-Formen bei Bestrahlung mit Farblicht

a) Aktionsspektren der Keimung

a.1) Elternformen: Oe. berteriana und Oe. odorata

Die Dauer der Vorbestrahlung mit Weißlicht war bei den Elternformen unterschiedlich: Oe. berteriana wurde 24 Stunden Oe. odorata 1/2 Stunde mit Weißlicht bestrahlt (vgl. Tab.2). Dagegen erfolgte bei beiden Arten übereinstimmend die zusätzliche monochromatische Bestrahlung an drei aufeinanderfolgend Tagen zum jeweils gleichen Zeitpunkt 20 Min. lang mit gleiche Quantenzahl/cm^2 bei allen Wellenlängen. Die nach der Farblich bestrahlung am 10.Tag nach der Aussaat erhaltenen Keimprozent werte sind daher als Werte relativer Quantenwirksamkeit anzusehen. Das gleiche gilt auch für die in den Aktionsspektren von Bastardformen wiedergegebenen Werte.

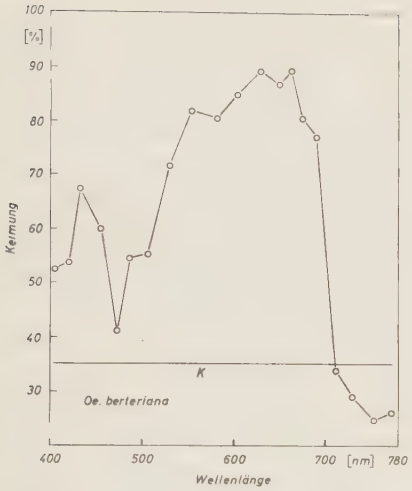

Abb.2. Aktionsspektrum der Samenkeimung von Oenothera berteriana.

Ordinate: Keimprozente vom 10.Tag nach der Aussaat. K = Weißlichtkontrolle. Aufgetragen sind hier und in den folgenden Aktionsspektren die Mittelwerte aus 6 Einzelwerten.

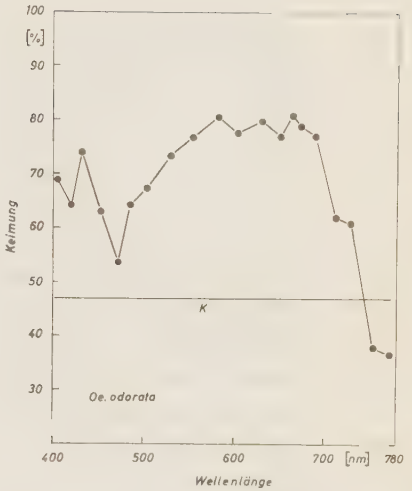

Abb.3. Aktionsspektrum der Samenkeimung von Oenothera odorata.

Ordinate: wie bei Abb.2.

Aus den in den Abbildungen 2 und 3 dargestellten Aktionsspektren der Samenkeimung von Oe. berteriana und Oe. odorata geht hervor, daß die Keimung beider Elternformen im Spektralbereich von 402 bis etwa 700 nm insgesamt gefördert und nur im Dunkelrot-Bereich gehemmt wird. Im Blau-Bereich (um 470 nm) tritt eine relativ geringe Keimförderung auf. Bereits vom kurzwelligen Grünbereich an steigt die Förderung bis zu einem Maximum im Hellroten. - Die geringe Verschiebung des Maximums der Keimförderung bei Oe. odorata gegenüber dem bei Oe. berteriana zum Dunkelroten ließ sich in weiteren Versuchen nicht reproduzieren. - Von etwa 690 nm an wird die Keimförderung bei beiden Elternformen stark reduziert bis zur Hemmung im Dunkelroten.

Trotz dieser qualitativ gleichen Keimreaktion beider Arten fällt jedoch auf, daß sie quantitativ unterschiedlich auf die monochromatische Strahlung reagieren: Die Samen der Oe. odorata zeigen innerhalb des gesamten Spektralbereichs eine schwächere Reaktion auf die Strahlung als die der Oe. berteriana. Förderung wie Hemmung der Keimung sind weniger stark ausgeprägt. - Dies Ergebnis entspricht den bisher festgestellten Reaktionen der Elternformen: Oe. odorata benötigt für eine etwa 50%ige Keimung kaum Licht (nur geringe Förderung durch 1/2 Stunde Weißlicht, vgl. Tab.2), während Oe. berteriana dafür 24 Stunden bestrahlt werden muß; Oe. odorata keimt unter diesen Versuchsbedingungen langsamer als Oe. berteriana (vgl. Tab.3). Die Aktionsspektren schließlich zeigen, daß die Samen der Oe. odorata auf die Strahlung der verschiedenen Lichtqualitäten weniger empfindlich reagieren als die der Oe. berteriana. Damit sind für Oe. odorata typische Merkmale eines fakultativen und für Oe. berteriana die eines obligatorischen Lichtkeimers gegeben.

a.2) Bastardformen

Im Unterschied zu den Elternformen konnte bei den Bastardpaaren die Keimreaktion auf Grund der jeweils möglichen gleichen Vorbestrahlungszeit für eine etwa 50%ige Keimung (vgl. Tab.2) bereits von Versuchsbeginn an unter konstanten Bedingungen untersucht werden. Bei der Aufnahme der Aktionsspektren von zu vergleichenden Formen ließen sich außerdem jahresperiodische Keimfähigkeitsschwankungen ausschließen, da jedes Bastardpaar in allen Spektralbereichen stets gleichzeitig bestrahlt wurde.

B.I:

Die Samen der beiden Formen B.I bert.Cyt.,bert.Plast. und B.I od.Cyt.,od.Plast. wurden 5 Stunden mit Weißlicht vorbestrahlt (vgl. Tab.2). Die zusätzliche monochromatische Bestrahlung ergab am 10.Tag nach der Aussaat die in Abb.4 angeführten Keimprozentwerte.

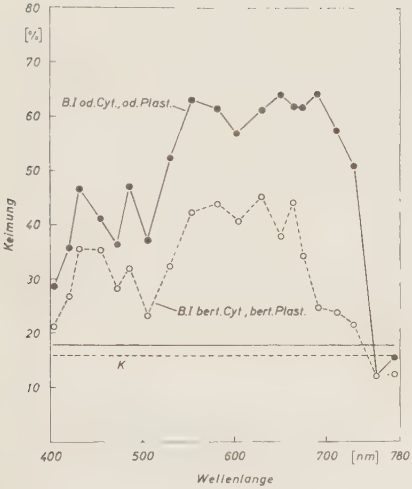

Abb.4. Aktionsspektrum der Samenkeimung von B.I bert.Cyt.,bert.Plast. und B.I od.Cyt., od.Plast.

Nach Abb.4 wird auch die Keimung der beiden B.I-Bastarde nur im Dunkelrot-Bereich gehemmt und in den übrigen Spektralbereichen insgesamt gefördert. Die Keimförderung ist wieder auffallend stark bereits vom kurzwelligen Grün- bis zum Hellrot-Bereich. - Die Verschiebung des Maximums im Hellroten zum Dunkelroten hin bei B.I od.Cyt.,od.Plast. ließ sich nicht reproduzieren. - Der qualitative Verlauf der Aktionsspektren beider B.I-Formen stimmt demnach weitgehend überein.

Es treten jedoch wie bei den Elternformen deutliche Unterschiede in der quantitativen Keimreaktion auf, die in diesem Falle ausschließlich auf die außerkaryotische Konstitution zurückgeführt werden können: Cytoplasma und Plastiden der Oe. odorata bewirken im gesamten Förderungsbereich eine stärkere Reaktion der Samen auf die Strahlung als Cytoplasma und Plastiden der Oe. berteriana. Die quantitativen Unterschiede lassen sich bei den meisten Werten von Abb.4 statistisch sichern.

l.v:

Bei ebenfalls weitgehend gleichem Verlauf ihrer Aktionsspektren (monochromatische Bestrahlung nach jeweils 40-stündiger Weißlicht-Vorbestrahlung) differieren auch die Samen de reziproken Bastarde l.v bert.Cyt.,bert.Plast. und l.v od.Cyt. od.Plast. in ihrer Empfindlichkeit gegenüber den Lichtqualitäten des sichtbaren Spektrums: Wie bei den B.I-Bastarden bewirkt wieder die außerkaryotische Konstitution der Oe. odorata eine quantitativ stärkere Keimreaktion als die der Oe. berteriana (vgl. Abb.5). Der Unterschied ist auch hier bei fast allen Wellenlängen sicherbar.

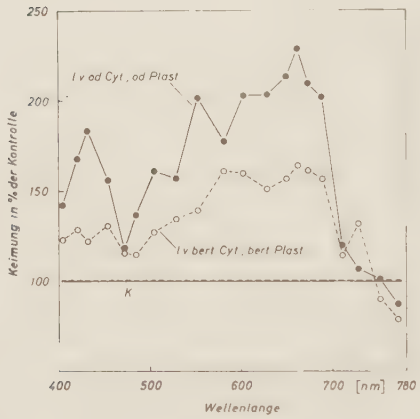

Abb.5. Aktionsspektrum der Samenkeimung von l.v bert.Cyt.,bert.Plast. u l.v od.Cyt., od.Plast.

Ordinate: relative Keimprozente. Die absoluten Prozen werte der Weißlichtkontroll waren signifikant unterschi lich (vgl. Tab.2). Sie wurd daher zum besseren Vergleic der Keimreaktion beider For men gleich 100 gesetzt und die übrigen Werte darauf be zogen.

B.v:

Auch die Aktionsspektren der Bastarde B.v bert.Cyt.,bert. Plast. und B.v od.Cyt.,od.Plast. (vgl. Abb.6), die nach 24 - stündiger Vorbestrahlung mit Weißlicht aufgenommen wurden, zeigen keine qualitativen Unterschiede : Die Wellenlängen maximaler Förderung und Hemmung sind weitgehend miteinander identisch.

Quantitativ reagieren dagegen beide Formen wieder signifi kant unterschiedlich auf die Strahlung sämtlicher Lichtquali täten. Während jedoch bei den Bastardpaaren mit den Genkomple

B.I und 1.v die außerkaryotische Konstitution der Oe. odorata eine empfindlichere Reaktion bewirkte als die der Oe. berteriana, ist hier umgekehrt die stärkere Keimreaktion auf das Cytoplasma und die Plastiden der Oe. berteriana zurückzuführen.

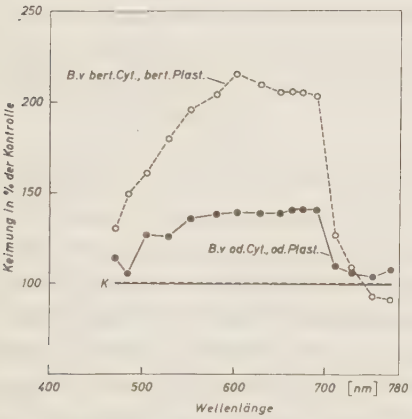

Abb.6. Aktionsspektrum der Samenkeimung von B.v bert.Cyt.,bert.Plast. und B.v od.Cyt., od.Plast.
Ordinate: wie bei Abb.5.

v.I:

Die Keimreaktion der Oe. odorata (v.I od.Cyt.,od.Plast.) wurde zusätzlich im Vergleich mit der zur Verfügung stehenden v.I bert.Cyt.,bert.Plast. innerhalb eines begrenzten Spektralbereiches untersucht.

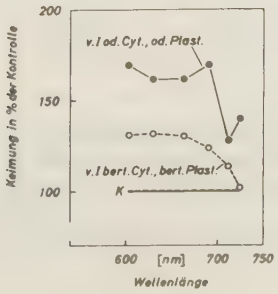

Abb.7. Aktionsspektrum der Samenkeimung von v.I od.Cyt., od.Plast. und v.I bert.Cyt.,bert.Plast.
Ordinate: wie bei Abb.5

Wie bei den B.I- und l.v-Formen bewirken auch hier (vgl. Abb. das odorata-Cytoplasma und die odorata-Plastiden eine stärker Lichtempfindlichkeit der Samen als das berteriana-Cytoplasma und die berteriana-Plastiden. - Während bei allen anderen untersuchten Oenotheren-Formen die signifikanten Unterschiede mehrfach reproduziert wurden, ließ sich die Signifikanz für die unterschiedliche Reaktion beider v.I-Formen, die zwar bei dem Abb.7 zugrundeliegenden Versuch nachweisbar war, nicht in jedem Fall reproduzieren. Die Tendenz zu einer durch die außer karyotische Konstitution der Oe. odorata bedingten empfindlic ren Keimreaktion wurde aber stets festgestellt.

Insgesamt treten also bei allen Formen, die sich ausschlie lich in Cytoplasmon und Plastom unterscheiden, quantitative Lichtempfindlichkeitsunterschiede der Samen bei der Keimung auf. Da sich der extrachromosomale Einfluß jedoch nicht einheitlich in einer Richtung auswirkt (bei den Formen mit dem Genotypus B.I, l.v und v.I ist die stärkere Keimreaktion durc die außerkaryotische Konstitution der Oe. odorata, dagegen be den B.v-Formen durch die der Oe. berteriana bedingt), muß angenommen werden, daß er von der jeweiligen Kombination des Cytoplasmas und der Plastiden mit den Genkomplexen abhängt. Auf Grund des ebenfalls festgestellten außerordentlich starke Einflusses der karyotischen Konstitution auf die Keimreaktion der bei den unterschiedlichen Weißlicht-Vorbestrahlungszeiten berücksichtigt ist, lassen sich die vorliegenden Ergebnisse durch eine von Kern, Plasma und Plastiden ausgehende, sich wechselseitig bedingende genetische Beeinflussung der durch Strahlung induzierten Samenkeimung erklären.

Weil sämtliche Aktionsspektren der Oenotheren die stärkste Keimförderung im Hellroten und eine Hemmung im Dunkelroten zeigten, war es naheliegend, an Hand von Versuchen zu der für die Phytochromwirksamkeit charakteristischen reversiblen Hell rot-Dunkelrot-Reaktion der Frage nachzugehen, ob die genetisc bedingte quantitativ unterschiedliche Keimreaktion auf eine entsprechende Phytochromwirksamkeit zurückgeführt werden kann

In einem Zusatzversuch wurde außerdem die auffallend starke Keimförderung durch Grünlicht[1], das vom Phytochrom zwar nur minimal absorbiert, bei welchem aber prozentual fast soviel Phytochrom wie bei Hellrot-Bestrahlung (etwa 80%) in die aktive Dunkelrot-absorbierende Form transformiert wird (vgl. BUTLER et al., 1964), auf ihre Reversibilisierbarkeit durch Dunkelrot-Strahlung geprüft.

b) Reversibilisierung der Keimförderung durch Dunkelrot-Strahlung

b.1) Die Hellrot-Dunkelrot-Reaktion der verschiedenen Oenotheren-Formen

Bei den Reversibilisierungsversuchen wurden die Samen ebenfalls zur Induktion einer etwa 50%igen Keimung zunächst mit Weißlicht vorbehandelt (vgl. die in Tab.2 angegebenen Bestrahlungszeiten) und nach 24-stündiger Dunkelheit an 3 aufeinanderfolgenden Tagen zum jeweils gleichen Zeitpunkt mit Farblicht bestrahlt: 20 Min. mit Hellrot (bei 665 nm) sowie 20 Min. mit Hellrot und anschließend 20 Min. mit Dunkelrot (bei 724 nm). Anders als bei den Versuchen zur Aufnahme der Aktionsspektren, bei denen quantengleich, im Dunkelrot-Bereich also mit noch geringerer Energie als im Hellrot-Bereich bestrahlt worden war, wurde hier die Strahlungsenergie im Verhältnis von HR : DR[2] wie 1 : 10 gehalten (HR: 1 200 erg/cm^2.sec, DR: 12 000 erg/cm^2.sec). Die bei den verschiedenen Formen erhaltenen Werte für die prozentuale Reversibilisierung der Keimförderung bei HR-Bestrahlung durch anschließende DR-Bestrahlung sind in Tab.4 wiedergegeben.

---

[1] Aktionsspektren der Keimung von Lactuca-Achänen z.B. zeigen auch eine relativ starke Keimförderung im grünen Spektralbereich (vgl. FLINT und Mc.ALISTER, 1937; BORTHWICK et al., 1953/54).

[2] HR = Hellrot, DR = Dunkelrot.

Tabelle 4. Hellrot-Dunkelrot-Reversibilisierung bei der Keimung verschiedener Oenotheren-Formen.

Genetische Konstitution	Keimprozente der Kontrollen	Prozentuale Keimförderung durch HR	Prozentuale Reversibilisierung der durch HR bewirkten Keimförderung durch DR
Oe. berteriana:			
B.l bert.Cyt., bert.Plast.	30,7	145,6	99,1
Oe. odorata:			
v.I od.Cyt., od.Plast.	50,7	83,2	36,5
v.I bert.Cyt., bert.Plast.	62,1	42,8	65,8
B.I bert.Cyt., bert.Plast.	59,3	13,5	132,5 [1]
B.I od.Cyt., od.Plast.	59,6	40,6	96,7
l.v bert.Cyt., bert.Plast.	44,6	40,6	100,6
l.v od.Cyt., od.Plast.	35,3	58,9	115,9
B.v bert.Cyt., bert.Plast.	35,8	142,7	102,5
B.v od.Cyt., od.Plast.	44,1	76,4	76,4

[1] Der Keimprozentwert liegt in diesem Fall unter dem Wert der Weißlichtkontrolle, d.h., die DR-Strahlung hat nicht nur die HR-Förderung vollständig aufgehoben, sondern zusätzlich noch die Keimung gehemmt.

Die auch hier auftretende unterschiedliche Reaktion der Oenotheren-Formen auf die Hellrot-Strahlung allein bestätigt die durch die Aktionsspektren erhaltenen Ergebnisse: Bei den Elterformen wird die Samenkeimung der Oe. berteriana stärker gefördert als die der Oe. odorata; bei den Bastardformen mit den

Genkomplexen v.I, B.I und l.v bewirkt die außerkaryotische Konstitution der Oe. odorata wieder eine empfindlichere Reaktion der Samen auf die Hellrot-Strahlung als die der Oe. berteriana, und umgekehrt ist bei den B.v-Formen die stärkere Keimreaktion auf das berteriana Cytoplasma und die berteriana Plastiden zurückzuführen.

Der nach anschließender Dunkelrot-Bestrahlung erhaltene Wert für die Reversibilisierung der Hellrot-Förderung differiert bei den verschiedenen Oenotheren-Formen ebenfalls: Der stärkeren Keimförderung der Oe. berteriana gegenüber Oe. odorata entspricht eine stärkere Reversibilisierbarkeit durch die Dunkelrot-Strahlung. Unter den Bastarden liegt die gleiche Relation nur bei den B.v-Formen und, schwach ausgeprägt, den l.v-Formen[1] vor. Dagegen treten bei den v.I- und B.I-Formen gegenüber der von der außerkaryotischen Konstitution der Oe. odorata bewirkten stärkeren Keimförderung bei Hellrot-Bestrahlung eine stärkere Reversibilisierbarkeit sowie teilweise zusätzliche Hemmung bei Dunkelrot-Bestrahlung auf, die (wie bei den B.v-Formen) durch den Besitz des Cytoplasmas und der Plastiden der Oe. berteriana bedingt sind.

Insgesamt ist also keine einheitliche Beziehung zwischen der unterschiedlichen prozentualen Keimförderung und ihrer Reversibilisierung festzustellen. Die Möglichkeit, daß die nachgewiesenen quantitativen Unterschiede in der Hellrot-Empfindlichkeit der Oenotheren-Samen nicht auf einer entsprechenden quantitativ unterschiedlichen Phytochromreaktion beruhen, ist allerdings unwahrscheinlich: In Reproduktionsversuchen traten zwar weitgehend die gleichen relativen Unterschiede bei der Reversibilisierung der Hellrot-Förderung durch Dunkelrot auf, aber die absoluten Werte für die prozentuale Reversibilisierung differierten oft sehr stark[2]. Die Keimförderung der Oe. odorata

---

[1] Der Unterschied beider l.v-Formen hinsichtlich ihrer Differenz zwischen der Keimrate bei Hellrot-Bestrahlung gegenüber der bei Hellrot/Dunkelrot-Bestrahlung ließ sich statistisch nicht sichern, während dies bei den anderen Formen möglich war. Allerdings konnte die Signifikanz des Unterschieds beider v.I-Formen wie bei den Aktionsspektren nicht immer reproduziert werden.

[2] Auch hier machen sich vermutlich jahresperiodische Empfindlichkeitsschwankungen der Samen bemerkbar.

z.B. war bei einem anderen Versuch sogar vollständig aufgehob
oder bei den l.v-Formen konnte an Stelle des Verhältnisses vo
100,6 : 115,9 %iger Reversibilisierung (vgl. Tab.4) das einer
70,1 : 77,4 %igen ermittelt werden. Demnach läßt sich mit hoher Wahrscheinlichkeit die Keimförderung durch Hellrot-Bestrahlung auf eine Wirkung des Phytochroms zurückführen.

Dagegen kann angenommen werden, daß die Unterschiede bei der Reversibilisierung eher durch die Reaktionskinetik beding sind, denn die Schnelligkeit der Reversibilisierung braucht nicht notwendig in Beziehung zu den Vorgängen zu stehen, die durch das physiologisch aktive Phytochrom hervorgerufen werde können.

b.2) Die Keimreaktion bei Grün-Dunkelrot-Bestrahlung

Nach den in Tab.5 angeführten Daten eines Zusatzversuche mit Samen der Oe. odorata wird bei Bestrahlung mit Dunkelrot (724 nm) im Anschluß an Grünbestrahlung (530 nm) die Keimförderung ebenfalls aufgehoben. Das Ergebnis ist gut reproduzierbar und läßt vermuten, daß die Keimförderung durch Grünlicht u.a. möglicherweise auch auf einer Phytochromwirksamkei beruht.

Tabelle 5. Samenkeimung der Oe. odorata bei Grün-Dunkelrot-Bestrahlung.

Bestrahlung	Keimung (%)
Dauerdunkel	53,9
3x 20 Min.Grün	74,8
3x(20 Min.Grün, 20 Min.DR)	45,8

Weitere Untersuchungen über mögliche biochemische Regulationen bei der phytochromabhängigen Samenkeimung wurden nicht durchgeführt, weil es schwierig ist, die zahlreichen Einzelvorgänge der Keimung wie Enzymaktivität, Abbau von Speicher-

protein, Zellteilung u.a. insgesamt zu berücksichtigen.
Bei der ebenfalls vom Phytochrom beeinflußten, genauer abgrenzbaren und deshalb anschließend untersuchten Chlorophyllsynthese bot sich dagegen leichter die Möglichkeit, z.B. mit spezifisch wirkenden, die Nucleinsäure- oder Proteinsynthese blockierenden Inhibitoren Anhaltspunkte über hierbei zugrundeliegende biochemische Reaktionszusammenhänge zu erhalten.

B. Untersuchungen über den Einfluß von Genomen, Cytoplasmon und Plastom auf die Chlorophyllsynthese

1. Kontrollversuche: Chlorophyllgehalt und Hypokotyllänge nach Induktion der Samenkeimung durch Grünlicht

Die Chlorophyllsynthese der Oenotheren-Keimlinge wurde im Anschluß an eine dreitägige Bestrahlung mit Grünlicht und ei zweitägige Dunkelzeit am 5.Tag nach der Aussaat durch Hellrot Strahlung induziert (bei einigen Versuchen zusätzlich durch Dunkelrot-Vorbestrahlung, vgl. Methode). Durch die Grünlicht-bestrahlung war zwar bei allen untersuchten Oenotheren insgesamt eine mindestens 90%ige Keimung erreicht, es machte sich aber die genetisch bedingte unterschiedliche Lichtempfindlich keit der Samen bei der Keimung und weiteren Entwicklung insofern bemerkbar, als am 5.Tag nach der Aussaat, vor Beginn der Hellrot-Bestrahlung, sowohl Unterschiede in dem sehr niedrige jedoch meßbaren Chlorophyllgehalt (1-2 µg/100 Keimlinge) als auch, deutlich sichtbar, in der mittleren Hypokotyllänge der Keimlinge[1] festgestellt wurden. Trotzdem war es für den weite Vergleich der Chlorophyllsynthese verschiedener Oenotheren-Formen vorteilhafter, das konstante Bestrahlungsprogramm bei allen Formen beizubehalten, als durch jeweils verschiedene Bestrahlungszeiten möglichst Keimlinge mit gleichem Chlorophyllgehalt zu erhalten.

In Tabelle 6 ist der am 5.Tag nach der Aussaat ermittelte Chlorophyllgehalt, der als Kontrollwert für die weitere Pigmentsynthese bei Hellrot-Bestrahlung diente, sowie die mittlere Hypokotyllänge der Oenotheren-Keimlinge eingetragen

[1] Genetisch bedingte Unterschiede im Hypokotyllängenwachstum von Oenotheren-Keimlingen hat auch ENDRESS (1969) bei ande Versuchen festgestellt.

Tabelle 6. Chlorophyll a - Gehalt und Hypokotyllänge der Oenotheren-Keimlinge nach dreitägiger Grünlichtbestrahlung und zweitägiger Dunkelzeit.
Mittelwerte ($\bar{x}$) mit Standardfehler ($s_{\bar{x}}$).

Genetische Konstitution	Chlorophyll a/ 100 Keimlinge (µg) $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ (n = 10-12)	Hypokotyllänge (mm) $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ (n = 50-70)
Oe. berteriana:		
B.1 bert.Cyt., bert.Plast.	0,868 ± 0,035	6,839 ± 0,151
B.1 od.Cyt., bert.Plast.	0,919 ± 0,035	8,931 ± 0,157
Oe. odorata:		
v.I od.Cyt., od.Plast.	2,521 ± 0,101	10,722 ± 0,207
v.I bert.Cyt., bert.Plast.	2,087 ± 0,096	10,367 ± 0,176
l.v bert.Cyt., bert.Plast.	1,869 ± 0,086	7,873 ± 0,151
l.v od.Cyt., od.Plast.	2,112 ± 0,121	8,773 ± 0,122

Aus den Daten geht hervor, daß bereits während der dreitägigen Grünlichtbestrahlung und anschließenden Dunkelzeit der karyotische Einfluß auf die Morphogenese der Oenotheren sehr stark ist: Die Keimlinge der Formen mit den Genkomplexen B.1 haben bis zum 5.Tag nach der Aussaat weniger Chlorophyll gebildet und sind auch wesentlich langsamer gewachsen als diejenigen mit den Genkomplexen v.I. Demgegenüber haben die Keimlinge der Formen mit den Komplexen l.v bei fast gleichem

Chlorophyllgehalt wie die v.l-Formen nur etwa die Hypokotyllänge der B.l-Formen erreicht. Der Einfluß der Genkomplexe auf die Chlorophyllsynthese kann also nicht in allen Fällen zu einem entsprechenden Einfluß auf das Hypokotyllängenwachstum in Beziehung gesetzt werden.

Trotz dieser signifikanten, karyotisch bedingten Unterschiede sind bei allen Formen außerdem solche zu bemerken, die auf die außerkaryotische Konstitution zurückzuführen sind: Von den Formen, die sich bei gleichen Genomen lediglich in Cytoplasmon und Plastom unterscheiden, haben jeweils diejenigen mit odorata-Cytoplasma und odorata-Plastiden mehr Chlorophyll synthetisiert und sind schneller gewachsen als die Formen mit berteriana-Cytoplasma und berteriana-Plastiden. - Die statistische Prüfung der durch die außerkaryotische Konstitution bedingten Unterschiede in Chlorophyllgehalt und Hypokotyllänge führt zu folgenden Ergebnissen: Die beiden B.l-Formen unterscheiden sich in ihrem Chlorophyllgehalt nicht signifikant ($\alpha > 0{,}25$)[1], dagegen aber in ihrer Hypokotyllänge ($\alpha < 0{,}001$). Umgekehrt sind bei den v.l-Formen die Unterschiede im Chlorophyllgehalt sicherbar ($\alpha < 0{,}01$), nicht aber die Unterschiede in der Hypokotyllänge ($\alpha > 0{,}1$). Die l.v-Formen wiederum unterscheiden sich nicht im Chlorophyllgehalt signifikant ($\alpha > 0{,}1$) sondern in der Hypokotyllänge ($\alpha < 0{,}001$). Wie sich bereits hinsichtlich des Einflusses der karyotischen Konstitution herausgestellt hat, beeinflußt demnach auch die außerkaryotische Konstitution beide Reaktionen, Chlorophyllsynthese und Hypokotyllängenwachstum, nicht in gleichem Maße.

Der ebenfalls ermittelte Chlorophyll b Gehalt vom 5.Tag nach der Aussaat (0,3 - 0,8 µg/100 Keimlinge) ist signifikant unterschiedlich nur bei Oenotheren-Formen mit verschiedenen Genomen, nicht bei solchen mit verschiedenem Cytoplasmon und Plastom. Für den Einfluß der außerkaryotischen Konstitution erübrigt sich daher im Gegensatz zur Chlorophyll a - Synthese beim weiteren Vergleich der durch anschließende Hellrot-Bestrahlung induzierten Chlorophyll b - Synthese die Berücksichtigung der jeweils geprüften Signifikanz von Unterschieden in den Kontrollwerten.

---

[1] α = Irrtumswahrscheinlichkeit für zweiseitige Fragestellung (t - Test)

2. Die Phytochrom-beeinflußte Chlorophyllsynthese verschiedener Oenotheren-Formen

a) Die Chlorophyllsynthese der Elternformen: Oe. berteriana und Oe. odorata

Beim Vergleich der Chlorophyllsynthese beider Elternformen wurde zunächst im Anschluß an frühere Arbeiten (vgl.z.B. KASEMIR und MOHR, 1967) geprüft, ob eine Dunkelrot-Vorbestrahlung die lag-Phase der Chlorophyllsynthese im Hellroten verkürzt und die Chlorophyllakkumulation beschleunigt. Damit sollte zugleich festgestellt werden, ob bei Dunkelrot- und anschließender Hellrot-Bestrahlung gleiche Unterschiede in der Reaktion beider Oenotheren auftreten wie bei Hellrot-Bestrahlung allein und daher bei dem unterschiedlichen Bestrahlungsprogramm ein analoger Phytochromeinfluß angenommen werden kann. - Diese Annahme ist insofern berechtigt, als durch kurze Hellrot-Vorbestrahlung derselbe Effekt erzielt werden kann wie durch die Dunkelrot-Vorbestrahlung (vgl. z.B. PRICE und KLEIN, 1961; AUGUSTINUSSEN, 1964).

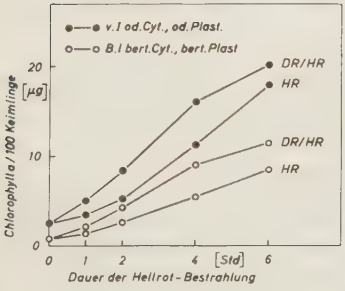

Abb.8. Chlorophyll a - Synthese der Elternformen: Oe. berteriana (B.1 bert.Cyt.,bert.Plast.) und Oe. odorata (v.I od.Cyt.,od.Plast.)

DR/HR: Die Keimlinge wurden nach dreitägiger Grünlichtbestrahlung und 28-stündiger Dunkelzeit 4 Stunden mit Dunkelrot vorbestrahlt, anschließend 16 Stunden im Dunkeln gehalten und am 5.Tag nach der Aussaat mit Hellrot bestrahlt.
HR: Die Keimlinge wurden nach dreitägiger Grünlichtbestrahlung und zweitägiger Dunkelzeit am 5.Tag nach der Aussaat mit Hellrot bestrahlt.

Die Daten in Abb.8 zeigen einmal, daß die lag-Phase der Chlorophyllsynthese beider Oenotheren durch die Dunkelrot-Vorbestrahlung verkürzt wird und die weitere Synthese schneller verläuft als bei Hellrot-Bestrahlung allein. Zum anderen bildet Oe. odorata (v.I od.Cyt.,od.Plast.) sowohl bei DR/HR- als auch bei HR-Bestrahlung stets mehr Chlorophyll a als Oe. berteriana (B.1 bert.Cyt.,bert.Plast.). Der Unterschied ist in beiden Fällen etwa der gleiche und bei jeder Bestrahlungsdauer (0 - 6 Stunden Hellrot) gut sicherbar.

Tabelle 7. Das Verhältnis Chlorophyll a/b von Oe. berteriana und Oe. odorata bei DR/HR- und HR-Bestrahlung (vgl. Abb.8).

Dauer der HR-Bestrahlung (Stunden)	Quotient Chlorophyll a/b			
	B.1 bert.Cyt., bert.Plast.		v.I od.Cyt., od.Plast.	
	DR/HR	HR	DR/HR	HR
0	2,29	2,03	5,75	5,65
1	5,16	4,36	10,47	15,62
2	6,15	5,26	5,52	6,33
4	3,86	3,49	4,32	4,09
6	2,78	3,23	3,44	4,01

Auch die Synthese von Chlorophyll b, die anfangs langsamer verläuft als die von Chlorophyll a, wird durch beide Bestrahlungsprogramme nicht unterschiedlich beeinflußt (vgl. Tab.7): Der Quotient Chlorophyll a/b nimmt bei DR/HR-Bestrahlung trotz verkürzter lag-Phase der Chlorophyll a - Synthese zunächst in etwa gleichem Maße zu wie bei ausschließlicher HR-Bestrahlung und verringert sich dann sowohl bei Oe. berteriana (B.1 bert. Cyt.,bert.Plast) als auch bei Oe. odorata (v.I od.Cyt.,od.Plast auf einen Wert von 3-4. Der etwa gleiche Unterschied beider Oenotheren in ihrer Chlorophyll a- und b - Synthese bei DR/HR-

wie bei HR-Bestrahlung deutet darauf hin, daß bei alleiniger HR-Bestrahlung der gleiche Phytochromeinfluß stattfindet wie bei DR-Vorbestrahlung. Auf die DR-Vorbestrahlung wurde deshalb bei den folgenden Versuchen verzichtet.

b) Der Einfluß der außerkaryotischen Konstitution auf die Chlorophyllsynthese

b.1) Die Chlorophyllsynthese der Formen v.I od.Cyt., od.Plast. (Oe. odorata) und v.I bert.Cyt.,bert.Plast.

Die beiden v.I-Formen hatten nach der dreitägigen Grünlichtbestrahlung und zweitägigen Dunkelzeit am 5.Tag nach der Aussaat zwar die gleiche Hypokotyllänge, aber einen unterschiedlichen Chlorophyllgehalt erreicht (vgl. Tab.6).

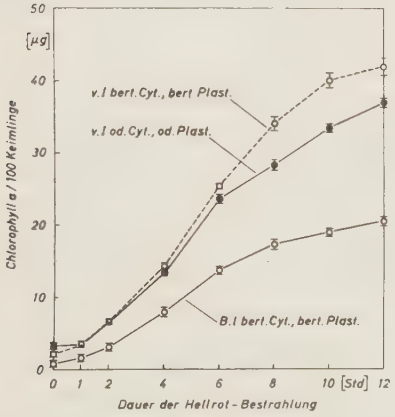

Abb.9. Chlorophyll a - Synthese der Formen v.I od.Cyt.,od.Plast. (Oe. odorata), v.I bert.Cyt., bert.Plast. und B.1 bert.Cyt., bert.Plast. (Oe. berteriana) bei HR-Bestrahlung am 5.Tag nach der Aussaat.

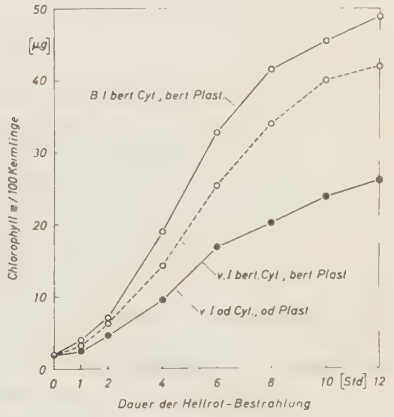

Abb.10. Chlorophyll a -Synthese der Formen v.I od.Cyt.,od.Plast. (Oe. odorata), v.I bert.Cyt., bert.Plast. und B.1 bert.Cyt., bert.Plast. (Oe. berteriana), bezogen auf die Ausgangswerte zu Beginn der HR-Bestrahlung am 5.Tag nach der Aussaat.

Der statistisch sicherbare Unterschied in den Ausgangswerten ist bei einer anschließenden HR-Bestrahlung bis zu 4 Stunden wieder aufgehoben (vgl. Abb.9). Erst bei weiterer Bestrahlung

bis zu 12 Stunden tritt wieder ein signifikanter Unterschied in der Chlorophyllsynthese beider Formen auf: Trotz des anfangs geringeren Chlorophyllgehaltes hat v.I bert.Cyt.,bert.Plast. im Hellroten mehr Chlorophyll synthetisiert als v.I od.Cyt., od.Plast.[1)], deren Ausgangs-Chlorophyllgehalt zunächst über dem von v.I bert.Cyt.,bert.Plast. lag. Bei Bezugnahme auf gleiche Ausgangswerte wird die schnellere Chlorophyllbildung von v.I bert.Cyt.,bert.Plast. gegenüber v.I od.Cyt.,od.Plast. noch deutlicher (vgl. Abb.10). Vergleicht man ferner die Chlorophyllsynthese der v.I-Formen mit der in Abb.9 und 10 ebenfalls dargestellten Synthese von Oe. berteriana (B.1 bert.Cyt.,bert. Plast.), so zeigt sich, daß der Unterschied in der Syntheserate der beiden v.I-Formen mit gleichen Genomen und verschiedenem Cytoplasmon und Plastom größer ist als der zwischen den beiden Formen mit verschiedenen Genomen und gleichem Cytoplasmon und Plastom, zwischen B.1 bert.Cyt.,bert.Plast. und v.I bert.Cyt., bert.Plast. Der von der außerkaryotischen Konstitution ausgehende Einfluß auf die Chlorophyllsynthese ist hier also stärker als der von der karyotischen Konstitution.

Die festgestellten Unterschiede in der Chlorophyll a - Synthese traten in gleicher Relation bei der Chlorophyll b - Synthese auf: Der Quotient Chlorophyll a/b stabilisierte sich bei allen 3 Formen nach 6-12-stündiger HR-Bestrahlung auf den gleichen Wert (B.1 bert.Cyt.,bert.Plast: 3,33; v.I bert.Cyt.,bert. Plast.: 3,47; v.I od.Cyt.,od.Plast.: 3,32).

Die Unterschiede wurden bis zu einer HR-Bestrahlung von 30 Stunden verfolgt und waren stets gut reproduzierbar.

Da eine statistische Sicherung der Unterschiede im Chlorophyllgehalt erst nach einer mindestens 8-stündigen Bestrahlung zu erreichen war, wurden bei den weiteren Versuchen vor allem die nach einer 12-stündigen HR-Bestrahlung erhaltenen Werte berücksichtigt.

---

1) Für diese Differenz wurde bei 12-stündiger HR-Bestrahlung nach dem sequentiellen t-Test bereits bei n = 7 als Fehler erster (α) und zweiter Art (β) je ein Wert $< 0{,}01$ ermittelt.

b.2) Die Chlorophyllsynthese der Formen l.v bert.Cyt.,bert.Plast. und l.v od.Cyt., od.Plast.

Zu Beginn der HR-Bestrahlung am 5.Tag nach der Aussaat enthielten die Keimlinge der beiden l.v-Formen gleich viel Chlorophyll a (vgl. Tab.6).

Tabelle 8. Chlorophyll a - Gehalt der l.v bert.Cyt.,bert.Plast. und der l.v od.Cyt.,od.Plast. nach 12-stündiger HR-Bestrahlung am 5.Tag nach der Aussaat.

Genetische Konstitution	Chlorophyll a / 100 Keimlinge (µg) $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ (n = 8)
l.v bert.Cyt.,bert.Plast.	39,098 ± 0,635
l.v od.Cyt., od.Plast.	33,502 ± 1,186

Während der 12-stündigen Bestrahlung mit Hellrot synthetisiert dann wie bei den v.I-Formen die Form mit der außerkaryotischen Konstitution der Oe. berteriana mehr Chlorophyll a als die Form mit der außerkaryotischen Konstitution der Oe. odorata ($\alpha < 0{,}01$[1]; vgl. Tab.8). Beide l.v-Formen erreichen dabei auch etwa den gleichen Endwert wie die v.I-Formen (vgl.Abb.9).

Das Verhältnis Chlorophyll a/b liegt ebenfalls einheitlich bei etwa 3,3 (l.v bert.Cyt.,bert.Plast.: 3,24; l.v od.Cyt., od. Plast.: 3,28).

b.3) Die Chlorophyllsynthese der Formen B.l bert.Cyt.,bert.Plast. (Oe. berteriana) und B.l od.Cyt., od.Plast.

Da die beiden B.l-Formen sich nur im Cytoplasma unterscheiden[2], bietet ein Vergleich ihrer Chlorophyllsynthese die Möglichkeit, die Frage nach einer Trennung von Cytoplasmon- und Plastom-Wirkung zu prüfen.

[1] α = Irrtumswahrscheinlichkeit für zweiseitige Fragestellung (t-Test).

[2] Die B.l-Form mit odorata Plastiden ist nicht lebensfähig.

Bei ebenfalls gleichen Ausgangswerten (vgl. Tab.6) hat B.1 od.Cyt.,bert.Plast. nach 12-stündiger HR-Bestrahlung signifikant mehr Chlorophyll a synthetisiert als B.1 bert.Cyt., bert.Plast. (vgl. Tab.9).

Tabelle 9. Chlorophyll a - Gehalt der B.1 bert.Cyt.,bert.Plast. (Oe. berteriana) und der B.1 od.Cyt.,bert.Plast. nach 12-stündiger HR-Bestrahlung am 5.Tag nach der Aussaat.

Genetische Konstitution	Chlorophyll a / 100 Keimlinge (μg) $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ (n = 12)
B.1 bert.Cyt.,bert.Plast. (Oe. berteriana)	15,423 ± 0,229
B.1 od.Cyt.,bert.Plast.	23,102 ± 0,634

In entsprechender Weise wird Chlorophyll b gebildet: Das Verhältnis Chlorophyll a/b ist bei B.1 bert.Cyt.,bert.Plast. 3,33, bei B.1 od.Cyt.,bert.Plast. 3,34 und stimmt damit bei beiden Formen mit dem der übrigen untersuchten Oenotheren überein.

Der gut reproduzierbare Unterschied in der Chlorophyllsynthese beider B.1-Formen läßt sich nicht ohne weiteres mit dem bisher Festgestellten vereinbaren: Während bei den v.I- und der 1.v-Formen die stärkere Chlorophyllsynthese durch das berteriana Cytoplasma und die berteriana-Plastiden bedingt war, ist sie hier auf eine Wirkung des odorata-Cytoplasmas, kombiniert mit berteriana-Plastiden, zurückzuführen. Das odorata Cytoplasma fördert also zusammen mit den Plastiden des anderen Elters (berteriana-Plastiden) noch mehr die Chlorophyllsynthese als das berteriana-Cytoplasma mit den Plastiden desselben Elters.

Bei einer Erklärung dieses Befundes ist zu berücksichtigen, daß die Form, die mehr Chlorophyll synthetisiert, B.1 od.Cyt., bert.Plast, ein um etwa 2 mm längeres Hypokotyl aufweist als B.1 bert.Cyt.,bert.Plast., die weniger Chlorophyll synthetisiert (vgl. Tab.6), obwohl keine direkte Beziehung zwischen

Chlorophyllsynthese und Hypokotyllängenwachstum angenommen werden kann. Es wurde nämlich beobachtet, daß die Samen der B.1 od.Cyt.,bert.Plast. größer sind und die Keimlinge am 5.Tag nach der Aussaat weniger etioliert, sondern vielmehr kräftiger aussehen als die der B.1 bert.Cyt.,bert.Plast. Es kann also angenommen werden, daß das odorata-Cytoplasma in Kombination mit den Komplexen B.1 und den berteriana-Plastiden eine stark stimulierende Wirkung auf die gesamte Morphogenese und damit auch auf die Chlorophyllsynthese ausübt (eventuell Heterosis-Effekt; vgl. JONES, 1964).

Die unterschiedliche Chlorophyllsynthese beider B.1-Formen kann eventuell auch durch einen unterschiedlichen Nährstoffvorrat in den Samen, bzw. die schwächere Synthese der B.1 bert. Cyt.,bert.Plast. durch einen beginnenden Mangel an Nährstoffen am 5.Tag nach der Aussaat bedingt sein. Diese Annahme würde auch durch folgenden Befund gestützt: Läßt man die Keimlinge der B.1 bert.Cyt.,bert.Plast. nach dreitägiger Grünlichtbestrahlung und zweitägiger Dunkelzeit weitere 13 Stunden im Dunkeln, so haben sie danach zwar etwa die gleiche Hypokotyllänge (8,69 ± 0,178 mm) erreicht, die von B.1 od.Cyt.,bert.Plast. bereits nach zweitägiger Dunkelzeit gemessen wurde (8,931 ± 0,157 mm, vgl. Tab.6), bei anschließender 12-stündiger HR-Bestrahlung synthetisieren sie jedoch nur 11,97 µg Chlorophyll a / 100 Keimlinge, also noch weniger als bei der Bestrahlung, die 13 Stunden früher erfolgt war (vgl. Tab.9). - Weitere Untersuchungen zu einem Einfluß des Nährstoffgehaltes der Samen beider B.1-Formen auf die Chlorophyllsynthese sollten folgen.

3. Die Wirkung von Inhibitoren der RNS - und Proteinsynthese auf die Chlorophyllsynthese verschiedener Oenotheren-Formen

Die folgenden Abschnitte sollen der Frage gelten, ob der Einfluß von karyotischer und außerkaryotischer Konstitution auf die Chlorophyllsynthese durch Inhibitoren der Transkription (Actinomycin D) und Translation (Chloramphenicol und Cycloheximid) weiter ananlysiert werden kann.

a) Die Wirkung von Actinomycin D

a.1) Oe. berteriana (B.1 bert.Cyt.,bert.Plast.), Oe. odorata (v.I od.Cyt.,od.Plast.) und v.I bert.Cyt.,bert.Plast.

Die Oenotheren-Keimlinge wurden 3 Stunden vor Beginn der HR-Bestrahlung mit wäßriger Actinomycin D - Lösung inkubiert.

Ihr Chlorophyllgehalt wurde nach einer Bestrahlung von 12 Stunden ermittelt. Die prozentuale Erniedrigung des Chlorophyll a - Gehaltes der Elternformen und der v.I bert.Cyt.,bert.Plast. ist in Abb.11 als Funktion der Act. D - Konzentration[1] dargestellt.

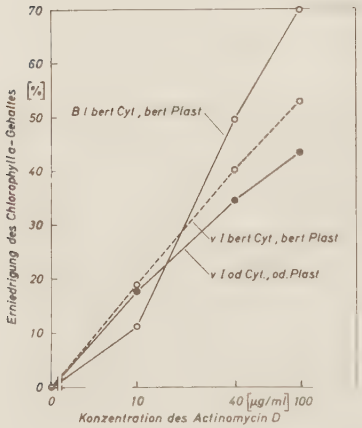

Abb.11. Prozentuale Erniedrigung des am Ende der 12-stündigen HR-Bestrahlung ermittelten Chlorophyll a - Gehaltes der Oe. berteriana (B.l bert.Cyt., bert.Plast.), Oe. odorata (v.I od.Cyt.,od.Plast.) und der v.I bert.Cyt.,bert.Plast. durch Actinomycin D .

Die Chlorophyll a - Synthese der Oe. berteriana (B.l bert. Cyt.,bert.Plast.) wird bei 10 µg/ml schwächer, dann aber bei steigender Konzentration des Act. D stärker gehemmt als die der Oe. odorata (v.I od.Cyt.,od.Plast.) und v.I bert.Cyt., bert Plast. Vergleicht man die Wirkung von Act. D mit dem Anstieg der Chlorophyllsynthese in aqua dest. bei einer Bestrahlung bis zu 12 Stunden (vgl. Abb.10), so zeigt sich, daß der höheren Syntheserate der B.l bert.Cyt.,bert.Plast. gegenüber v.I bert. Cyt.,bert.Plast. und dieser wiederum gegenüber v.I od.Cyt., od Plast. die gleiche Reihenfolge in der Hemmung der Chlorophyllsynthese durch 40 und 100 µg/ml Act. D entspricht. Die Größe der Unterschiede ist jedoch nicht gleich: Während sich die beiden v.I-Formen auf Grund ihrer außerkaryotischen Konstituti wesentlich stärker in ihrer Syntheserate unterscheiden als

[1] Act. D = Actinomycin D

B.1 bert.Cyt.,bert.Plast. gegenüber v.I bert.Cyt.,bert.Plast. auf Grund ihrer karyotischen Konstitution, ist der durch Cytoplasmon und Plastom bedingte Unterschied in der Hemmung der Synthese durch Act. D (bei höheren Konzentrationen als 10 µg/ml) wesentlich schwächer ausgeprägt als derjenige, welcher auf einen Einfluß der Genome zurückzuführen ist. Dies Ergebnis gibt somit einen Hinweis darauf, daß die Chlorophyllsynthese trotz der starken Beeinflussung durch die außerkaryotische Konstitution doch durch eine stärkere Aktivierung der RNS - Synthese im Kern bedingt ist.

a.2) l.v bert.Cyt.,bert.Plast. und l.v od.Cyt.,od.Plast.

Auch der nach 12-stündiger HR-Bestrahlung ermittelte Chlorophyll a - Gehalt der beiden l.v-Formen nimmt bei Inkubation mit Act. D (3 Stunden vor Bestrahlungsbeginn) mit steigender Konzentration unterschiedlich ab: Die erhöhte Chlorophyll a - Synthese der l.v bert.Cyt.,bert.Plast. gegenüber l.v od.Cyt.,od.Plast. wird durch Act. D stärker gehemmt, so daß der signifikante Unterschied im Chlorophyll a - Gehalt (Wasserkontrollen: $\alpha < 0{,}01$) bei einer Act. D - Konzentration von 100 µg/ml schließlich vollständig aufgehoben ist ($\alpha > 0{,}1$; vgl. Abb.12).

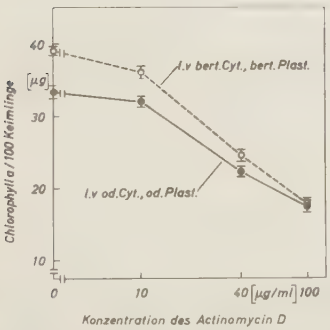

Abb.12. Chlorophyll a-Gehalt der l.v bert.Cyt.,bert.Plast. und der l.v od.Cyt.,od.Plast. nach 12-stündiger HR-Bestrahlung unter Einwirkung von Actinomycin D.

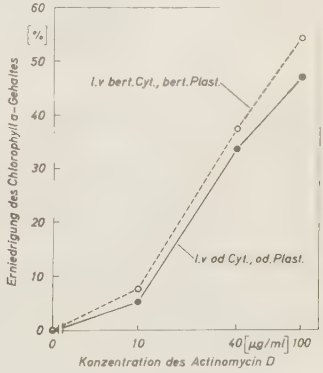

Abb.13. Prozentuale Erniedrigung des am Ende der 12-stündigen HR-Bestrahlung ermittelten Chlorophyll a-Gehaltes der l.v bert.Cyt.,bert.Plast. und der l.v od.Cyt.,od.Plast. durch Actinomycin D.

Der durch die außerkaryotische Konstitution bedingte Unterschied in der prozentualen Erniedrigung des Chlorophyll a - Gehaltes (z.B. bei 40 µg/ml Act.D 37,3 : 33,8 % ; vgl. Abb.13) ist etwas kleiner als derjenige im Chlorophyllgehalt der Wasserkontrollen (39,1 : 33,5 µg Chlorophyll a / 100 Keimlinge ; vgl. Abb.12). Es läßt sich also wie bei den v.I-Formen keine eindeutige Entsprechung zwischen Chlorophyllbildung und Blockierung der Transkription feststellen, vielmehr deutet der schwächer ausgeprägte Unterschied in der Hemmung der Synthese durch Act.D auch hier auf eine stärkere RNS-Synthese im Kern als in Cytoplasma und Plastiden hin.

a.3) B.1 bert.Cyt.,bert.Plast. und B.1 od.Cyt.,bert.Plast.

Die Annahme, daß die erhöhte Chlorophyllbildung der B.1 od.Cyt.,bert.Plast. gegenüber B.1 bert.Cyt.,bert.Plast. durch eine stark stimulierende Wirkung des mit berteriana Plastiden kombinierten odorata Cytoplasmas auf die gesamte Morphogenese bedingt ist, wird weiter gestützt durch die unterschiedliche Hemmung der Synthese beider Formen durch Act. D :

Tabelle 10. Prozentuale Erniedrigung des am Ende der 12-stündigen HR-Bestrahlung ermittelten Chlorophyll a - Gehaltes der B.1 bert.Cyt.,bert.Plast. und der B.1 od.Cyt.,bert.Plast. durch Actinomycin D .

Genetische Konstitution	Prozentuale Erniedrigung des Chlorophyll a - Gehaltes durch 40 µg/ml Actinomycin D
B.1 bert.Cyt.,bert.Plast. (Oe. berteriana)	49,6
B.1 od.Cyt.,bert.Plast.	42,4

Im Gegensatz zu dem bisher Festgestellten entspricht hier der stärkeren Chlorophyllbildung (bei B.1 od.Cyt.,bert.Plast., vgl. Tab.9) nicht eine stärkere, sondern eine schwächere Hemmung durch Act. D (vgl. Tab.10).

Die Synthese von Chlorophyll b wurde bei allen untersuchten Oenotheren-Formen durch Act. D in gleichem Maße gehemmt wie die Chlorophyll a - Synthese: der Quotient Chlorophyll a/b blieb stets der gleiche.

b) Die Wirkung von Chloramphenicol

b.1) Oe. berteriana (B.1 bert.Cyt.,bert.Plast.), Oe. odorata (v.I od.Cyt.,od.Plast.) und v.I bert.Cyt.,bert.Plast.

Die Oenotheren-Keimlinge wurden wie bei den Versuchen mit Act. D 3 Stunden vor Beginn der HR-Bestrahlung am 5.Tag nach der Aussaat mit wäßriger CAP - Lösung[1] inkubiert.

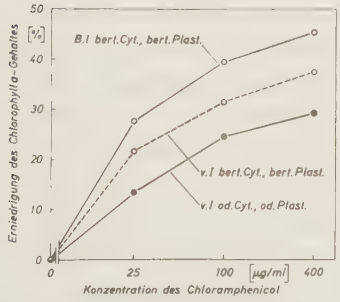

Abb.14. Prozentuale Erniedrigung des am Ende der 12-stündigen HR-Bestrahlung ermittelten Chlorophyll a - Gehaltes der Oe. berteriana (B.1 bert.Cyt.,bert.Plast.), Oe. odorata (v.I od.Cyt.,od.Plast.) und der v.I bert.Cyt.,bert.Plast. durch Chloramphenicol.

Die in Abb.14 wiedergegebenen Werte für die prozentuale Erniedrigung des nach 12-stündiger HR-Bestrahlung ermittelten Chlorophyll a - Gehaltes zeigen bei allen verwendeten CAP - Konzentrationen Unterschiede in der gleichen Reihenfolge, die beim Anstieg der Chlorophyllsynthese dieser Oenotheren (vgl. Abb.10) sowie bei ihrer Hemmung durch Act. D (vgl. Abb.11) festgestellt worden war. Während jedoch bei der Hemmung der Chlorophyllsynthese durch Act. D in quantitativer Hinsicht kein dem der Syntheserate eindeutig entsprechender Unterschied zwischen beiden v.I-Formen auftrat, ist dies bei dem durch die

[1] CAP = Chloramphenicol

außerkaryotische Konstitution bedingten Unterschied in der Hemmung durch CAP eher zutreffend. Es fällt dabei auf, daß sich die v.I bert.Cyt.,bert.Plast. bei einer Hemmung der Chlorophyllsynthese um etwa 20% durch 10 µg/ml Act. D kaum von der v.I od.Cyt.,od.Plast. unterscheidet (vgl. Abb.11), dagegen bei einer ähnlich starken Hemmung durch 25 µg/ml CAP bereits sehr stark. Mit zunehmender CAP-Konzentration vergrößert sich dann bei wesentlich langsamerem Anstieg der prozentualen Erniedrigung des Chlorophyllgehaltes als bei Act. D der Unterschied zwischen beiden v.I-Formen nicht mehr. Da das CAP bei niedriger Konzentration sehr spezifisch an die Ribosomen von Chloroplasten gebunden wird (vgl. ANDERSON und SMILLIE, 1966), kann die durch die außerkaryotische Konstitution der Oe. berteriana bedingte stärkere Hemmung wohl in eine direkte Beziehung zu der durch berteriana Plastiden bedingten höheren Syntheserate gestellt werden. - Der spezifische Einfluß der berteriana-Plastiden gegenüber den odorata-Plastiden wird besonders deutlich bei einem Vergleich der prozentualen Synthesehemmung durch CAP mit dem Anstieg der Synthese bei der Oe. berteriana (B.1 bert.Cyt., bert.Plast.) und der Oe. odorata mit bert.Cyt.,bert.Plast. (vgl. Abb.14 mit Abb.10) : Trotz der unterschiedlichen Genotypen ist für beide Formen jeweils eine deutliche Annäherung des Kurvenverlaufes zu bemerken. - Damit ist zugleich ein weiterer Hinweis auf die Identität der berteriana Plastiden bei beiden Oenotheren-Formen gegeben.

b.2) l.v bert.Cyt.,bert.Plast. und l.v od.Cyt.,od.Plast.

Auch der Chlorophyll a - Gehalt der l.v-Formen nimmt bei Inkubation mit CAP in Abhängigkeit von steigender Konzentration langsamer ab als bei Inkubation mit Act. D, der Unterschied zwischen beiden Formen ist dabei aber schneller aufgehoben [1] (vgl. Abb.15 mit Abb.12). Bei schwächerer Hemmung der Chlorophyllsynthese ist somit auch hier die durch die außerkaryotische Konstitution bedingte unterschiedliche prozentuale Erniedrigung

[1] Bereits bei 100 µg/ml CAP : $\alpha > 0{,}1$ (t-Test).

des Chlorophyll a - Gehaltes beider Formen wesentlich stärker ausgeprägt als bei der Hemmung durch Act. D (vgl. Abb.16 mit Abb.13). Ähnlich wie bei den v.I-Formen (vgl. Abb.14) tritt außerdem ein deutlicher Unterschied bereits bei relativ niedriger CAP-Konzentration auf (hier allerdings erst bei 100 µg/ml CAP) und er vergrößert sich auch nicht mehr bei steigender Konzentration. Demnach kann ebenfalls bei den l.v-Formen die stärkere Beeinflussung der Chlorophyllsynthese durch die außerkaryotische Konstitution von Oe. berteriana gegenüber der von Oe. odorata in enger Beziehung zu einer entsprechend stärkeren Proteinsynthese in berteriana-Plastiden gesehen werden.

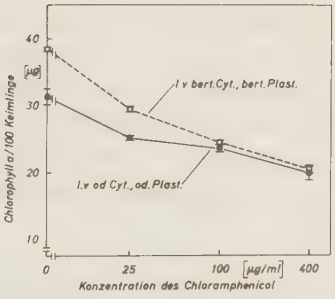

Abb.15. Chlorophyll a-Gehalt der l.v bert.Cyt.,bert.Plast. und der l.v od.Cyt.,od.Plast. nach 12-stündiger HR-Bestrahlung unter Einwirkung von Chloramphenicol.

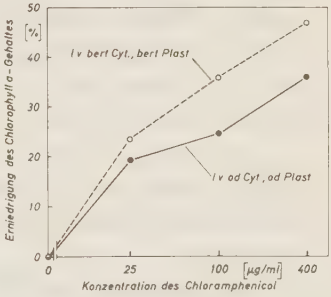

Abb.16. Prozentuale Erniedrigung des am Ende der 12-stündigen HR-Bestrahlung ermittelten Chlorophyll a - Gehaltes der l.v bert.Cyt.,bert.Plast. und der l.v od.Cyt.,od.Plast. durch Chloramphenicol.

b.3) B.l bert.Cyt.,bert.Plast. und B.l od.Cyt.,bert.Plast.

Die Chlorophyllsynthese der beiden B.l-Formen wird durch CAP ähnlich wie durch Act. D (vgl. Tab.10) in umgekehrtem Verhältnis zum Chlorophyllgehalt der Wasserkontrollen (vgl. Tab.9) gehemmt:

Tabelle 11. Prozentuale Erniedrigung des am Ende der 12-stündigen HR-Bestrahlung ermittelten Chlorophyll a - Gehaltes der B.l bert.Cyt.,bert.Plast. und der B.l od.Cyt.,bert.Plast. durch Chloramphenicol.

Genetische Konstitution	Prozentuale Erniedrigung des Chlorophyll a - Gehaltes durch 100 µg/ml Chloramphenicol
B.l bert.Cyt.,bert.Plast. (Oe. berteriana)	39,5
B.l od.Cyt.,bert.Plast.	17,6

Der stärkeren Chlorophyllbildung von B.l od.Cyt.,bert.Plast. gegenüber B.l bert.Cyt.,bert.Plast. (vgl. Tab.9) entspricht keine stärkere, sondern eine schwächere Hemmung durch CAP (vgl. Tab.11). - Die Vermutung, daß die erhöhte Chlorophyllsynthese der Oe. berteriana mit od.Cyt.,bert.Plast. durch eine stark stimulierende Wirkung des odorata-Cytoplasmas hervorgerufen ist, wird durch die festgestellte geringere Hemmung mit CAP, dessen spezifische Wirkung in den Chloroplasten vorausgesetzt werden kann, zusätzlich gestützt.

Die Synthese von Chlorophyll b wurde durch CAP stets schwächer gehemmt als die Synthese von Chlorophyll a : Bei allen untersuchten Oenotheren-Formen nahm der Quotient Chlorophyll a/ mit steigender CAP-Konzentration bis zu 400 µg/ml um etwa 1/3 ab, er reduzierte sich von etwa 3,3 auf etwa 2,2.

c) Die Wirkung von Cycloheximid auf die Chlorophyllsynthese der l.v bert.Cyt.,bert.Plast. und der l.v od.Cyt.,od.Plast.

Ein weiterer Hinweis darauf, daß die festgestellte unterschiedliche Hemmung der Chlorophyllsynthese durch CAP auf einer entsprechend unterschiedlichen Hemmung der Proteinsynthese in den Chloroplasten beruht, ergab sich durch den Vergleich mit der Wirkung von Cycloheximid, einem Inhibitor, der die Proteinsynthese in der gesamten Zelle blockiert (vgl. Einleitung).

Die beiden l.v-Formen wurden wie mit den anderen Inhibitoren 3 Stunden vor Beginn der HR-Bestrahlung am 5.Tag nach der Aussaat mit wäßriger Cycloheximid-Lösung inkubiert.

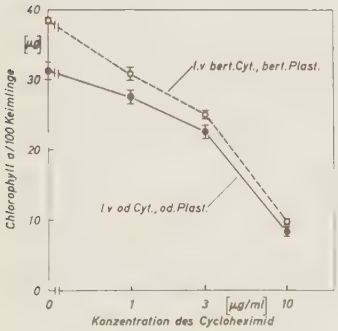

Abb.17. Chlorophyll a-Gehalt der l.v bert.Cyt.,bert.Plast. und der l.v od.Cyt.,od.Plast. nach 12-stündiger HR-Bestrahlung unter Einwirkung von Cycloheximid.

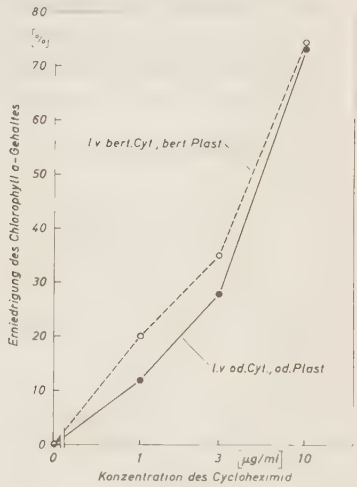

Abb.18. Prozentuale Erniedrigung des nach 12-stündiger HR-Bestrahlung ermittelten Chlorophyll a - Gehaltes der l.v bert.Cyt.,bert. Plast. und der l.v od.Cyt., od. Plast durch Cycloheximid.

Die Daten von Abb.17 zeigen, daß sich bei steigender Konzentration des Cycloheximid trotz starker Abnahme des Chlorophyll a - Gehaltes der Unterschied zwischen beiden l.v-Formen weniger verringert als z.B. bei Inkubation mit Chloramphenicol (vgl. Abb.15). Die entsprechenden Werte für die prozentuale Erniedrigung des Chlorophyll a - Gehaltes sind bei beiden Formen anfangs unterschiedlich, nähern sich dann aber bei höherer Konzentration des Cycloheximid. Dieser Befund, daß sich unter Einwirkung von

Cycloheximid mit steigender Konzentration der durch die außerkaryotische Konstitution bedingte Unterschied in der prozentualen Hemmung der Chlorophyllsynthese aufhebt, läßt darauf schließen, daß im Gegensatz zu der durch Chloramphenicol hervorgerufenen spezifischen Hemmung der Proteinsynthese in Chloroplasten hier die unterschiedliche Synthesehemmung überdeckt wird durch eine noch stärkere Hemmung der vom Kern gesteuerten Proteinsynthese im Cytoplasma.

IV. DISKUSSION

Die Ergebnisse zeigen, daß sowohl die Samenkeimung als auch die Chlorophyllsynthese der verschiedenen Oenotheren-Formen nicht nur vom Genotypus, sondern auch von der Konstitution des Cytoplasmas und der Plastiden beeinflußt werden. Dabei hat sich - wie schon früher - vor allem hinsichtlich der Frage nach dem Einfluß der außerkaryotischen Konstitution als sehr günstig erwiesen, die Reaktionen von genetisch bekannten Formen zu vergleichen, die sich bei gleichem Genotypus ausschließlich im Plasmotypus unterscheiden.

Bei der Untersuchung der Chlorophyllsynthese [1] wurde deshalb mit Absicht weniger auf methodische Variation Wert gelegt als vielmehr darauf, das Bestrahlungsprogramm sowie die Bestimmung des Chlorophyllgehaltes zu standardisieren, um möglichst genau den spezifischen Einfluß der beiden verschiedenen Plastidensorten (berteriana- und odorata-Plastiden) zu erfassen.

Der Befund, daß bei den v.I- und den l.v-Formen die Chlorophyllsynthese durch die außerkaryotische Konstitution der Oe. berteriana stärker gefördert wird als durch die der Oe. odorata, zeigt die Bedeutung der nichtchromosomalen Erbfaktoren für diese Reaktion und läßt darauf schließen, daß die für die Stabilisierung des Chlorophylls erforderlichen Strukturproteine der berteriana-Plastiden auf Grund ihrer spezifischen, genetisch bedingten Membraneigenschaften eine stärkere Pigmentbildung ermöglichen als die der odorata-Plastiden. - Die

---

[1] Die Ergebnisse der Keimversuche wurden am Ende des Abschnitts "Bastardformen" und in dem Abschnitt "Reversibilisierung der Keimförderung durch Dunkelrot-Strahlung" diskutiert.

Ergebnisse liefern unseres Erachtens zugleich weitere Hinweise für die Richtigkeit der zunächst aus der Kreuzungsherkunft erschlossenen genetischen, insbesondere der außerkaryotischen Konstitution.

Die außerdem durchgeführte Untersuchung mit Inhibitoren der Nucleinsäure- und Proteinsynthese ergab zwar keine eindeutige Entsprechung zwischen dem festgestellten Einfluß der außerkaryotischen Konstitution und einer gleichzeitig stattfindenden RNS-Synthese in den Chloroplasten, doch konnte eine enge Beziehung zur plastidären Proteinsynthese nachgewiesen werden: Bei Inkubation der Oenotheren-Keimlinge mit Act. D waren die durch die außerkaryotische Konstitution bedingten Unterschiede in der prozentualen Erniedrigung des Chlorophyllgehaltes wesentlich schwächer ausgeprägt als diejenigen, die bei Inkubation mit CAP sowie beim Syntheseanstieg der Wasserkontrollen auftraten.

Die in der Einleitung gestellte Frage, ob der extrachromosomale Einfluß auf die Chlorophyllbildung auf eine vom Phytochrom gesteuerte Aktivierung der von plastideneigener DNS ausgehenden RNS-Synthese, von der ihrerseits die Bildung der Strukturproteine abhängt, zurückzuführen sei, muß auf Grund dieser Ergebnisse in differenzierterer Form, als es bei KASEMIR und MOHR (1967) geschieht, beantwortet werden: Die starke Hemmung der Chlorophyllsynthese durch Act. D bei Oenotheren-Formen mit unterschiedlichem und gleichem Genotypus läßt auf eine relativ starke Genaktivierung im Kern gegenüber einer schwächeren in den Plastiden schließen. Daß die Phytochromwirksamkeit in direkter Beziehung zu einer vom Kern gesteuerten Protochlorophyll-

synthese steht, ist von KASEMIR und MOHR selbst ausgeschlossen worden, da sie bei ihren Act. D - Versuchen mit und ohne Dunkelrot-Vorbestrahlung dieselbe prozentuale Hemmung der Chlorophyllsynthese feststellten und eine eigentlich zu erwartende "Interaction von Act. D - Wirkung und P_{730} - Wirkung" fehlte. Weil die hier vorliegenden Ergebnisse auf eine nur schwache Blockierung der Transkription durch Act. D in den Chloroplasten zurückzuführen sind, ist jedoch auch eine durch das Phytochrom bewirkte Aktivierung plastidärer Erbträger unwahrscheinlich. Hinsichtlich der Chlorophyllbildung kann deshalb die von MOHR (1965) vertretene Hypothese, daß das Phytochrom bei morphogenetischen Reaktionen eine "differentielle Genaktivierung" bewirkt, kaum zutreffen. Der in den Chloroplasten festgestellte und gegenüber Act. D wesentlich stärkere Einfluß von CAP läßt vielmehr auf eine durch die Hellrot-Strahlung in direkterer Weise gesteigerte Proteinsynthese schließen. - Dieser Befund kann eher durch die Annahme von HENDRICKS und BORTHWICK (1967) erklärt werden, daß das Phytochrom nicht über eine Genaktivierung, sondern über eine Änderung der Membran-Permeabilität wirkt (vgl. auch HAUPT, 1968; RUBINSTEIN et al., 1969). Folglich könnte außerdem auch noch eine mehr enzymatische Regulation der RNS-abhängigen Proteinsynthese angenommen werden.

Die geringe Relation zwischen Act. D - und CAP - Wirkung, bzw. zwischen plastidärer RNS - und Proteinsynthese beruht vielleicht darauf, daß beide Reaktionen zeitlich so weit auseinanderfallen, daß bereits vor Beginn der Hellrot-Bestrahlung und insofern unabhängig von Phytochrom-Einfluß in den Chloroplasten ein Teil der RNS gebildet worden ist und deshalb während

der Bestrahlung die Blockierung der DNS-abhängigen RNS-Synthese durch Act. D nicht in demselben Maße erfolgt wie die der Protei synthese durch CAP. Eine solche Erklärung würde dadurch gestütz daß bereits in mehreren Organismen (vgl. MOLDAVA, 1965) wie auc in Acetabularia (vgl. ZETSCHE, 1968) langlebige messenger-RNS nachgewiesen ist. Daß außerdem die Synthese von Proteinen nicht nur auf der Stufe der Transkription, sondern auch der Translation geregelt werden kann, ist z.B. bei der Synthese der UDPG Phosphorylase in kernlosen Stücken von Acetabularia festgestell worden (vgl. ZETSCHE, 1968).

Zusatz: Es kann als sicher vorausgesetzt werden, daß das Chloramphenicol spezifisch an die 70 S - Ribosomen der Chloroplasten gebunden wird (vgl. ANDERSON und SMILLIE, 1966). Dafür, daß dabei, wie zunächst vorausgesetzt[1], die Synthese von Strukturproteinen, nicht aber die löslicher beeinflußt wird, spricht die von VELEMÍNSKÝ und RÖBBELEN (1966) festgestellte enge Beziehung der elektronenmikroskopisch nachgewiesenen Chloroplaste struktur zum Chlorophyll a- im Unterschied zum Chlorophyll b-Gehalt[2], woraus gefolgert wurde, daß das Chlorophyll b nicht unbedingt für den Aufbau einer normalen Chloroplastenfeinstruktur nötig ist. Demnach könnte die in dieser Arbeit beobachtete, durch Chloramphenicol bewirkte stärkere Hemmung der Synthese vo Chlorophyll a gegenüber der von Chlorophyll b durch eine Blocki rung der Bildung von Strukturproteinen bedingt sein. Ob bei die sen Versuchen tatsächlich die Ausbildung der Thylakoidmembranen beeinflußt wurde, kann allerdings erst durch eine elektronenmikroskopische Untersuchung endgültig bestimmt werden.

---

1) vgl. Einleitung

2) Sie konnten außerdem auch in den Chloroplasten einer Chlorophyll b - freien Arabidopsis - Mutante (ch^1) Membrankörper mit typischen Granastapeln nachweisen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Untersuchungen über die Bedeutung der genetischen Konstitution für die phytochromabhängige Samenkeimung der komplexheterozygoten Raimannia-Oenotheren Oe. berteriana (mit den Chromosomenkomplexen B und l), Oe. odorata (mit v und I) und ihrer mehrförmigen Nachkommenschaft haben zu folgenden Hauptergebnissen geführt:

1. Bei Weißlichtbestrahlung zur Induktion einer 50%igen Keimung treten starke, vor allem genotypisch bedingte Unterschiede in der Lichtbedürftigkeit der Oenotheren-Samen auf: Die Chromosomenkomplexe lassen sich in einer Reihe zunehmender Lichtbedürftigkeit anordnen: I - v - B - l; dabei bewirkt I die geringste und l die stärkste Lichtabhängigkeit.
2. Bei zusätzlicher Farblichtbestrahlung mit den verschiedenen Lichtqualitäten des sichtbaren Spektrums werden quantitative Lichtempfindlichkeitsunterschiede festgestellt: Bei den Elternformen wird die Samenkeimung der Oe. berteriana stärker gefördert als die der Oe. odorata; bei den Bastardformen mit den Komplexen v.I, B.I und l.v bewirkt die außerkaryotische Konstitution der Oe. odorata eine stärkere Reaktion der Samen auf die Strahlung als die der Oe. berteriana, umgekehrt ist bei den beiden Formen mit den Komplexen B und v die stärkere Keimreaktion auf das berteriana-Cytoplasma und die berteriana-Plastiden zurückzuführen.
3. Da bei sämtlichen untersuchten Oenotheren-Formen die Keimförderung bei Hellrot-Bestrahlung durch anschließende Dunkelrot-Bestrahlung aufgehoben werden kann, beruht die genetisch bedingte unterschiedliche Keimung im Hellroten mit hoher Wahrscheinlichkeit auf einer Phytochrom-Reaktion.

Untersuchungen über die Bedeutung der genetischen Konstitution für die Chlorophyllsynthese haben ergeben:

1. Von den Elternformen synthetisiert Oe. berteriana bei Hellrot-Bestrahlung am 5.Tag nach der Aussaat weniger Chlorophyll als Oe. odorata trotz höherer Syntheserate. Die v.I- und die l.v-Formen mit der außerkaryotischen Konstitution der Oe. berteriana bilden mehr Chlorophyll bei schnellerem Syntheseanstieg als diejenigen mit der außerkaryotischen Konstitution der Oe. odorata.
2. Entsprechend wird die Chlorophyllsynthese der Formen mit berteriana-Cytoplasma und berteriana-Plastiden durch Actinomycin D und Chloramphenicol stärker gehemmt als die der Formen mit odorata-Cytoplasma und odorata-Plastiden. Doch sind die durch die außerkaryotische Konstitution bedingten Unterschiede in der prozentualen Hemmung der Chlorophyllbildung durch Actinomycin D wesentlich schwächer ausgeprägt als diejenigen, die bei der Hemmung durch Chloramphenicol auftreten. Es wird daher angenommen, daß die durch die außerkaryotische Konstitution stark beeinflußte Chlorophyllbildung in den Chloroplasten weniger auf der Stufe der Transkription als vielmehr auf der Stufe der Translation geregelt wird.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

ANDERSON, L.A. und R.M. SMILLIE: Binding of chloramphenicol by ribosomes from chloroplasts. Biochem. biophys. Res. Commun. 23, 535-539 (1966).

AUGUSTINUSSEN, E.: On the formation of chlorophyll a and chlorophyll b in etiolated leaves. Physiol. Plantarum 17, 403-406 (1964).

BOCK, G und W. HAUPT: Die Chloroplastendrehung bei Mougeotia. III. Die Frage der Lokalisierung des Hellrot-Dunkelrot-Pigmentsystems in der Zelle. Planta 57, 518-530 (1961).

BOGORAD, L. und A.B. JACOBSON: Inhibition of greening of etiolated leaves by actinomycin D. Biochem. biophys. Res. Commun. 14, 113-117 (1964).

BORTHWICK, H.A., S.B. HENDRICKS, E.H. TOOLE und V.K. TOOLE: Action of light on lettuce-seed germination. Bot. Gaz. 115, 205-225 (1953/54).

BUTLER, W.L., S.B. HENDRICKS und H.W. SIEGELMAN: Action spectra of phytochrome in vitro. Photochem. Photobiol. 3, 521-528 (1964).

BÜNNING, E.: Zur Physiologie der endogenen Jahresrhythmik in Pflanzen, speziell in Samen. Z. Naturforsch. 4b, 167-176 (1949).

CHUN, E.H.L., M.H. VAUGHAN,jr. und A. RICH: The isolation and characterization of DNA assoziated with chloroplast preparations. J. Mol. Biol. 7, 130-141 (1963).

CLARK-WALTER, G.D. und A.W. LINNANE: In vivo differentiation of yeast cytplasmic and mitochondrial protein synthesis with antibiotics. Biochem. biophys. Res. Commun. 25, 8-13 (1966).

CLELAND, R.E.: The cytogenetics of Oenothera. Advanc. Genet. 11, 147-237 (1962).

EISENSTADT, J.M. und G. BRAWERMANN: The protein-synthesizing systems from the cytoplasm and the chloroplasts of Euglena gracilis. J. Mol. Biol. 10, 392-402 (1964).

ENDRESS, E.: Über den Einfluß der genetischen Konstitution auf die Phytochromwirksamkeit bei der Steuerung des Hypokotyllängenwachstums und der Anthocyansynthese. Diplomarbeit, Tübingen 1969.

ENNIS, H.L. und M. LUBIN: Cycloheximide: Aspects of inhibition of protein synthesis in mammalian cells. Science 146, 1474-1476 (1964).

FLINT, L.H. und E.D. Mc.ALISTER: Wave lengths of radiation in visible spectrum promoting the germination of light-sensitive lettuce seed. Smithsonian Miscellaneous Collections 96, 2 (1937).

FREY, H.: Über die Abhängigkeit der Hitzeresistenz von der genetischen Konstitution einiger Raimannia-Oenotheren. Staatsexamensarbeit, Tübingen 1964.

- Untersuchungen über die Hitzeresistenz und circadiane Rhythmik von Oenotheren bekannter genetischer Konstitution. Dissertation, Tübingen 1967.

- und B. SCHWEMMLE: Zur genetischen Analyse der circadianen Rhythmik bei höheren Pflanzen. Nachr. Akad. Wissensch. Göttingen, Math.-Phys. Kl., 1967, 106-107.

GOFFEAU, A. und J. BRACHET: Deoxyribonucleic acid - dependent incorporation of amino acids into the proteins of chloroplasts isolated from anucleate Acetabularia fragments. Biochim. biophys. Acta (Amst.) 95, 302-313 (1965).

HAGEMANN, R.: Plasmatische Vererbung. Genetik, Grundlagen, Ergebnisse und Probleme in Einzeldarstellungen. Jena: VEB, Gustav Fischer Verlag 1964.

HAUPT, W.: Die Orientierung der Phytochrommoleküle in der Mougeotiazelle. Ein neues Modell zur Deutung der experimentellen Befunde. Z. Pflanzenphysiol. 58, 331-346 (1968).

- und G. BOCK: Die Chloroplastendrehung bei Mougeotia. IV. Die Orientierung der Phytochrom-Moleküle im Cytoplasma. Planta 59, 38-48 (1962).

HAURY, A.: Über die Abhängigkeit der Hellrot-Dunkelrot-Empfindlichkeit von der genetischen Konstitution bei Samenkeimung und Längenwachstum einiger Raimannia-Oenotheren. Staatsexamensarbeit, Tübingen 1962.

HAUSTEIN, E.: Genetische und zytologische Untersuchungen an Eu-Oenotheren. IV. Die Plastidenvererbung bei Oenothera berteriana und Oenothera odorata. Z. Vererb.-Lehre 75, 661-689 (1938).

HENDRICKS, S.B. und H.A. BORTHWICK: The function of phytochrome in regulation of plant growth. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash.) 58, 2125-2130 (1967).

JONES, D.F.: Plasmagenes and Chromogenes in Heterosis. In: J.W. GOWEN (ed.): Heterosis. Hafner Publishing Company, New York, London 1964.

KASEMIR, H. und H. MOHR: Die Wirkung von Phytochrom und Actinomycin D auf die Chlorophyll a - Synthese von Senfkeimlingen (Sinapis alba L.). Planta (Berl.) 72, 187-197 (1967).

KIRK, J.T.O. und R.L. ALLEN: Dependence of chloroplast pigment synthesis on protein synthesis: effect of actidione. Biochem. biophys. Res. Commun. 21, 523-530 (1965).

KLEIN, S., G. BRYAN und L. BOGORAD: Early stages in the development of plastid fine structure in red and far-red light. J. Cell Biol. 22, 433-442 (1964).

KOTTEK, F.: Der Einfluß von monochromatischem Blau-, Hellrot- und Dunkelrot-Licht auf die Samenkeimung einiger genetisch bekannter Oenotheren. Staatsexamensarbeit, Tübingen 1966.

KUNZE, D.: Aktionsspektren der Samenkeimung einiger Raimannia-Oenotheren. Staatsexamensarbeit, Tübingen 1966.

LANGE, O.L.: Untersuchungen über den Wasserhaushalt und die Hitzeresistenz mauretanischer Wüsten- und Savannenpflanzen. Flora (Jena) 147, 595-651 (1959).

LINNANE, A.W. und P.S. STEWART: The inhibition of chlorophyll formation in Euglena by antibiotics which inhibit bacterial and mitochondrial protein synthesis. Biochem. biophys. Res. Commun. 27, 511-516 (1967).

MARGULIES, M.M. und F. PARENTI: In vitro protein synthesis by plastids of Phaseolus vulgaris. III. Formation of lamellar and soluble chloroplast protein. Plant Physiol. 43, 504-514 (1968).

MICHAELIS, P.: Cytoplasmatic inheritance in Epilobium and its theoretical significance. Advanc. Genet. 6, 287-401 (1954).

- Untersuchungen zur Mutation plasmatischer Erbträger, besonders der Plastiden. I. Planta (Berl.) 51, 600-634 (1958).

MOHR, H.: Differential gene activation as a mode of action of phytochrome 730. Photochem. Photobiol. 5, 469-483 (1966).

- und G. SCHOSER: Eine Interferenzfilter-Monochromatoranlage für photobiologische Zwecke. Planta 53, 1-17 (1959).

MOLDAVA, K.: Nucleic acids and protein biosynthesis. Ann. Rev. Biochem. 34, 419-448 (1965).

NATIONAL BUREAU OF STANDARDS: Tables to facilitata sequential t-Tests. Washington: U.S. Department of Commerce (1951).

PRICE, L. und KLEIN, W.H.: Red, far-red response and chlorophyll synthesis. Plant Physiol. 36, 733-735 (1961).

REICH, E., A. CERAMI und D.C. WARD: Actinomycin. In: GOTTLIEB, D. und P.D. SHAW (ed.): Antibiotics I, Mechanism of action. Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag 1967.

RENNER, O.: Die pflanzlichen Plastiden als selbständige Elemente der genetischen Konstitution. Ber. sächs. Akad. Wiss. Leipzig, math.-phys. Kl. 86, 241-266 (1934).

RÖBBELEN, G.: Untersuchungen an strahleninduzierten Blattfarb-mutanten von Arabidopsis thaliana (L.) HEYNH. Z. indukt. Abstamm. - u. Vererb. - L. 88, 189-252 (1957).

RUBINSTEIN, B., K.S. DRURY und R.B. PARK: Evidence for bound phytochrome in oat seedlings. Plant Physiol. 44, 105-109 (1969).

RUDOLPH, E.: Untersuchungen über den Einfluß der Photoreaktions-systeme auf die Chlorophyllsynthese. Planta (Berl.) 66, 75-94 (1965).

SCHWEMMLE, B.: Über den Einfluß von Kern, Plasma und Plastiden auf die photoperiodische Reaktion einiger Raimannia-Oenotheren. Planta 58, 619-646 (1962).

SCHWEMMLE, J.: Genetische und zytologische Untersuchungen an Eu-Oenotheren. I. Die Analyse der Oenothera berteriana und Oenothera odorata. Z. Vererb.-Lehre 75, 358-468 (1938 a).

- Genetische und zytologische Untersuchungen an Eu-Oenotheren. III. Untersuchungen über das Zusammenwirken von Kern, Plasma und Plastiden. Z. Vererb.-Lehre 75, 486-660 (1938 b).

- Keimversuche auf genetischer Grundlage. I. Die Lichtabhängigkeit. Planta 54, 294-313 (1960).

- Keimversuche auf genetischer Grundlage. II. Genetische Konstitution und Keimverlauf. Flora (Jena) 150, 274-293 (1961).

- Keimversuche auf genetischer Grundlage. I. Flora, Abt. A, 16 40-85 (1969).

SCHOSER, G.: Eine Anlage zur Erzeugung monochromatischer Strahlung für photobiologische Untersuchungen. Ber. dtsch. bot. Ges. 79, 271-278 (1966).

SCOTT, N.S. und R.M. SMILLIE: Evidence for the direction of chloroplast ribosomal RNA synthesis by chloroplast DNA. Biochem. biophys. Res. Commun. 28, 598-603 (1967).

SISLER, H.D. und M.R. SIEGEL: Cycloheximide and other glutarimide antibiotics. In: GOTTLIEB, D. und P.D. SHAW (ed.): Antibiotics I, Mechanism of action. Berlin-Heidelberg-New York: Springer-Verlag 1967.

SPENCER, D.: Protein synthesis by isolated spinach chloroplasts Arch. Biochem. Biophys. 111, 381-390 (1965).

STEIN, I.: Über die Hellrot-Dunkelrot-Empfindlichkeit von Oenotherenkeimlingen verschiedener plasmonischer und plastomischer Konstitution. Staatsexamensarbeit, Tübingen 19

TOOLE, E.H., S.B. HENDRICKS, H.A. BORTHWICK und V.K. TOOLE: Physiology of seed germination. Ann. Rev. Plant Physiol. 7, 299-324 (1956).

VELEMINSKY, J. und G. RÖBBELEN: Beziehungen zwischen Chlorophyllgehalt und Chloroplastenstruktur in einer chlorina-Mutante von Arabidopsis thaliana (L.) HEYNH. Planta (Berl.) 68, 15-35 (1966).

WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik. 4.Aufl., Jena 1961.

WHIFFEN, A.J.: The production, assay and antibiotic activity of actidione, an antibiotic from Streptomyces griseus. J. Bacteriol. 56, 283-291 (1948)

WOLFE, A.D. und F.E. HAHN: Mode of action of chloramphenicol. IX. Effects of chloramphenicol upon a ribosomal amino acid polymerization system and its binding to bacterial ribosome. Biochim. biophys. Acta 95, 146-155 (1965).

ZETSCHE, K.: Steuerung der Zelldifferenzierung bei der Grünalge Acetabularia. Biol. Rundschau 6, 97-112 (1968).

ZIEGLER, R. und K. EGLE: Zur quantitativen Analyse der Chloroplastenpigmente. I. Kritische Überprüfung der spektralphotometrischen Chlorophyll-Bestimmung. Beitr. Biol. Pflanzen 41, 11-37 (1965).

L e b e n s l a u f

Am 16. Juni 1941 wurde ich als Tochter des Pfarrers Otto Kunze und seiner Ehefrau Ruth, geb. Achenbach, in Burbach, Krs. Siegen, geboren.

Bildungsweg:
1948 - 1950 Volksschule in Berleburg, Krs. Wittgenstein
1950 - 1951 Volksschule in Feudingen/Lahn
1951 - Herbst 1958 Lahntalschule in Biedenkopf
Herbst 1958 - 1960 Städt. Mädchengymnasium in Wuppertal-Elberfeld
7. 3. 1960 Reifeprüfung
Ab Sommersemester 1960 Studium der Fächer Biologie, Chemie und ev. Theologie an den Universitäten Bonn und Tübingen
10. 5. 1963 Philosophikum und Prüfung in Erziehungswissenschaft
30. 5. 1967 Wissenschaftliche Prüfung für das Lehramt an Gymnasien

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:
Bünning, Metzner, Nultsch, Schumacher, Schwemmle in Botanik,
Danneel, Egelhaaf, Grell, Schwartzkopff in Zoologie,
Bayer, Müller, Rüdorff, Schitz-Du Mont in Chemie,
Beyerlin, Käsemann, Klein, Kreck, Lang, Rückert in Theologie,
Bollnow, Flitner, Schulz, Schwartländer in Philosophie und Pädagogik.

Vom Frühjahr 1965 bis 1969 arbeitete ich am Botanischen Institut, bzw. am Institut für Biologie der Universität Tübingen unter Anleitung von Herrn Professor Dr. B. Schwemmle zuerst an einer Staatsexamensarbeit und dann an meiner Dissertation: "Über den Einfluß von Geno- und Plasmotypus auf die phytochromgesteuerte Samenkeimung und die Chlorophyllsynthese (Untersuchungen an Raimannia-Oenotheren)".

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Stuttgart 1, Königstraße 51
Telefon 295681

Druck: Polyfoto Dr. Vogt KG
Stuttgart 1, Königstraße 51
Telefon 295681